المملكة العربية السعودية
المؤسسة العامة للتدريب التقني والمهني
الإدارة العامة لتصميم وتطوير المناهج

تخصص تقنية التصنيع الغذائي

الأحياء الدقيقة في الأغذية

(عملي)

١٥٠ صنع

طبعة ١٤٢٩ هـ

مقدمة

الحمد لله وحده، والصلاة والسلام على من لا نبي بعده، محمد وعلى آله وصحبه، وبعد:

تسعى المؤسسة العامة للتدريب التقني والمهني لتأهيل الكوادر الوطنية المدربة القادرة على شغل الوظائف التقنية والفنية والمهنية المتوفرة في سوق العمل، ويأتي هذا الاهتمام نتيجة للتوجهات السديدة من لدن قادة هذا الوطن التي تصب في مجملها نحو إيجاد وطن متكامل يعتمد ذاتياً على موارده وعلى قوة شبابه المسلح بالعلم والإيمان من أجل الاستمرار قدماً في دفع عجلة التقدم التنموي لتصل بعون الله تعالى لمصاف الدول المتقدمة صناعياً.

وقد خطت الإدارة العامة لتصميم وتطوير المناهج خطوة إيجابية تتفق مع التجارب الدولية المتقدمة في بناء البرامج التدريبية، وفق أساليب علمية حديثة تحاكي متطلبات سوق العمل بكافة تخصصاته لتلبي متطلباته، وقد تمثلت هذه الخطوة في مشروع إعداد المعايير المهنية الوطنية الذي يمثل الركيزة الأساسية في بناء البرامج التدريبية، إذ تعتمد المعايير في بنائها على تشكيل لجان تخصصية تمثل سوق العمل و المؤسسة العامة للتدريب التقني والمهني بحيث تتوافق الرؤية العلمية مع الواقع العملي الذي تفرضه متطلبات سوق العمل، لتخرج هذه اللجان في النهاية بنظرة متكاملة لبرنامج تدريبي أكثر التصاقاً بسوق العمل، وأكثر واقعية في تحقيق متطلباته الأساسية.

وتتناول هذه الحقيبة التدريبية " الأحياء الدقيقة في الأغذية -عملي " لمتدربي قسم" تقنية التصنيع الغذائي " للكليات التقنية موضوعات حيوية تتناول كيفية اكتساب المهارات اللازمة لهذا التخصص.

والإدارة العامة لتصميم وتطوير المناهج وهي تضع بين يديك هذه الحقيبة التدريبية تأمل من الله عز وجل أن تسهم بشكل مباشر في تأصيل المهارات الضرورية اللازمة، بأسلوب مبسط يخلو من التعقيد، وبالاستعانة بالتطبيقات والأشكال التي تدعم عملية اكتساب هذه المهارات.

والله نسأل أن يوفق القائمين على إعدادها والمستفيدين منها لما يحبه ويرضاه، إنه سميع مجيب الدعاء.

الإدارة العامة لتصميم وتطوير المناهج

تمهيد

عرف تأثير الميكروبات منذ قديم الزمان حيث حفظ الإنسان القديم غذاءه من الفساد بطرق عديدة كالتجفيف والتمليح، ولكن علم الميكروبيولوجيا بوضعة الحالي يعتبر من العلوم الحديثة التي برزت إلى العالم منذ حوالي قرن ونصف تقريبا، وهذا العلم يعنى بدراسة الأحياء الدقيقة عموما من حيث الشكل والتركيب والخواص الفسيولوجية والمزرعية وأهميتها من الناحية الطبية والزراعية والتصنيعية.

ولقد حدث تطور سريع لهذا العلم في السنين الأخيرة، وأصبح له أهمية كبرى في حياة الإنسان ورفاهيته، وليس أدل على ذلك من استغلال الميكروبات في كثير من الصناعات الغذائية مثل صناعة الألبان ومنتجاتها، التخمرات المختلفة، كما أمكن إنتاج الفيتامينات والإنزيمات والأحماض العضوية وغيرها من المنتجات الهامة واللازمة لكثير من الصناعات.

ولقد وضعة هذه الحقيبة كمقرر تدريبي لمتدربي قسم تقنية التصنيع الغذائي وروعي فيها الآتي:

١- التعرف على مصادر التلوث.

٢- التعرف على شكل المستعمرات البكتيرية والخمائر والفطريات.

٣- دراسة بعض الاختبارات التي تجرى على بعض المنتجات الغذائية للتأكد من مدى صلاحيتها للاستهلاك الآدمي.

٤- دراسة بكتريولوجيا المياه، والتعرف على كيفية معرفة التلوث من عدمه.

٥- ميكروبيولوجيا الأغذية والتو كسينات الميكروبية.

٦- ميكروبيولوجيا الألبان والميكروبات المرضية باللبن.

٧- البيئات والمحاليل والأدلة المستخدمة في إجراء الاختبارات اللازمة للكشف والتعرف على الأحياء الدقيقة.

وإننا لنرجو أن تكون هذه الحقيبة مرجعا وافيا لمتدربي قسم تقنية التصنيع الغذائي. ولقد راعينا أن تشمل هذه الحقيبة أحدث الطرق المستعملة في دراسة الميكروبيلوجيا من الناحية العلمية، كما زودناه بكثير من الأشكال والجداول التي تفيد في الحياة العملية.

والله ولى التوفيق.

الأحياء الدقيقة في الأغذية

الاحتياطات الواجب اتباعها

الاحتياطات الواجب اتباعها في مختبر الأحياء الدقيقة في الأغذية

١- يمنع التدخين أو الأكل أثناء العمل وبالمختبر حيث ان أيدي القائمين بالعمل من حيث نزع السدادات القطنية أو رج العينات أو أخذ العينة بواسطة الماصات قد تتلوث بالبكتريا وعليه فإن التدخين أو الأكل بمثل هذه الأيدي هي إحدى وسائل نقل البكتريا إلى الإنسان وجهازه الهضمي أو التنفسي.

٢- يجب تجنب وضع الماصات المستعملة على المنضدة أو لمس هذه الماصات باليد حيث أن سطحها الخارجي دائما وأبدا ما يكون ملوثاً بالميكروبات التي نقلناها بها.

٣- يجب أن تكون سطوح طاولات المختبر ملساء وذلك لسهولة وفعالية تعقيمها.

٤- يجب غسل الأيدي بمحلول مطهر أو بالماء والصابون جيداً وتجفيفها ويجب أن تكون الأيدي جافة أثناء العمل

٥- يستعمل خلاط ذو غطاء محكم دائما لخلط العينات حتى يتجنب نثر أجزاء من العينة بالعمل والتي قد تكون إحدى مسببات الأمراض.

٦- يجب تغطية منطقة العمل على طاولات المختبر بأوراق لها قابلية الامتصاص أينما يكون احتمال انسكاب المحاليل التي تحوي البكتريا المرضية أو سمومها.

٧- تغمر كافة الماصات التي استخدمت في نقل مواد العدوى أو السموم أو الميكروبات في محلول معقم وقاتل للأحياء الدقيقة ومن ثم تنقل إلى محلول الغسيل وأخيراً بواسطة جهاز التعقيم تحت درجات عالية مع كافة اللوازم المستخدمة لتلك الأعمال ومن ضمنها بالطو المعمل

التعرف على الأجهزة المستخدمة في مختبر الأحياء الدقيقة

الكائنات الحية الدقيقة هي مجموعة من الكائنات الحية متناهية في الصغر لاترى بالعين المجردة حيث يقل حجمها إلى درجة لا تستطيع معها العين المجردة رؤيتها ، وهي عامة تتكون من خلية واحدة تقوم بجميع الوظائف الحيوية(الحركة ، التنفس، التغذية ، الإخراج- الخ) لما كانت الكائنات الحية الدقيقة لا يمكن مشاهدتها بالعين المجردة ، ومع عظم تأثيرها على الإنسان سواء بالنفع أو بالضرر فكان لا بد من العمل على إيجاد الأجهزة والوسائل التي تمكننا من دراسة هذه الكائنات الحية.

أنواع الأحياء الدقيقة:

١- البكتريا ٢- الخمائر

٣- الفطريات ٤- الفيروسات

وتختلف هذه الكائنات الحية في أنواعها وتركيبها وصفاتها ،حيث منها النافع للإنسان مثل بكتريا التخمر(صناعة منتجات الألبان، منتجات الخبيز)، ومنها ما هو ضار مثل البكتريا المسببة للفساد الغذائي، والمسببة للتسمم الغذائي

(١) الميكروسكوب المركب:

يستخدم للتعرف على الكائنات الحية الدقيقة حيث يقوم بتكبير صورتها بما يمكننا من دراستها والتعرف على صفاتها ، وكيفية الاستفادة منها.

تركيب الميكروسكوب المركب:-

١- **العدسة العينية**:Eye piece وهي التي تثبت في الطرف العلوي في أنبوب السحب، وهي عبارة عن عدسة مركبة(أي تتكون من مجموعة من العدسات).

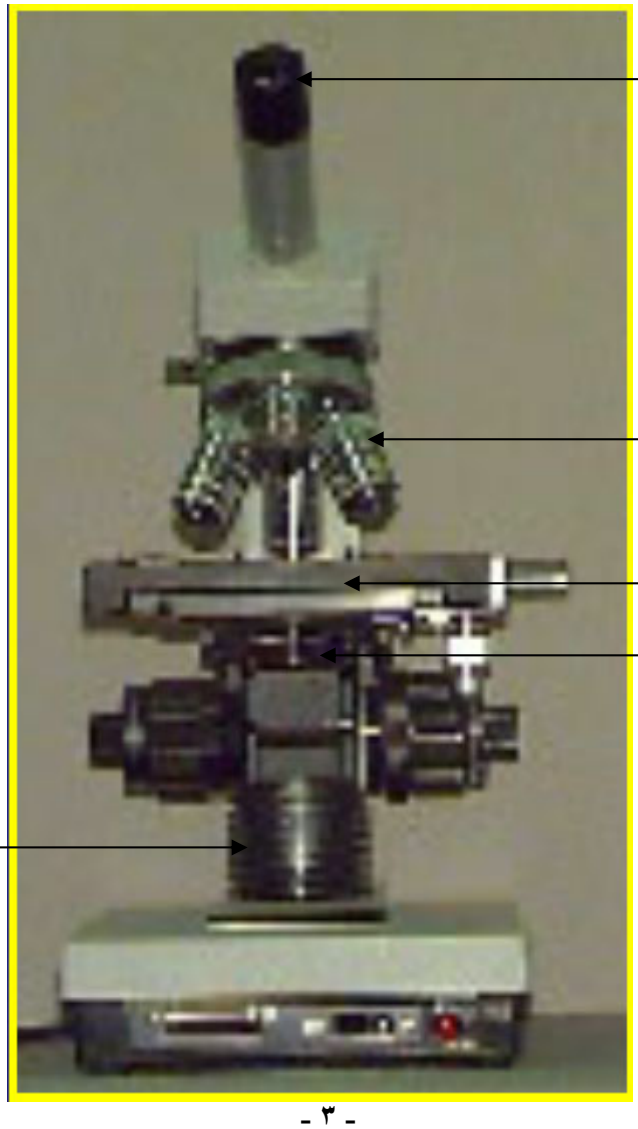
٢- **العدسة الشيئية:** Objective piece وهى التي تثبت في الطرف السفلي في أنبوب السحب، وهى عبارة عن عدسة مركبة(أي تتكون من مجموعة من العدسات) وهذه العدسات ذات قوة تكبيرية مختلفة.

٣- **المسرح:**حيث توضع عليها الشرائح ومزودة بفتحة في مركزها ليمر فيها الضوء، وذلك حتى تكون الصورة واضحة.

٤- **مصدر للإضاءة:** عبارة عن مصدر للضوء طبيعي أو مصدر كهربي.

٥- المكثف: يتم عن طريقه التحكم في قوة الإضاءة.

والشكل التالي يوضح فيه الميكروسكوب المركب.



(٢) الأوتوكلاف (المعقم)

إن معظم الدراسات الميكروبيولوجية تعتمد على المزارع النقية أي التي ينمو بها نوع واحد من الكائنات الدقيقة، وهذه تتطلب لنموها بيئات غذائية معقمة. والتعقيم عبارة عن العمليات التي من شأنها قتل أو إزالة كل الكائنات الحية الدقيقة من الوسط المراد تعقيمه سواء كان ذلك الوسط بيئة غذائية أو محاليل مختلفة وأماكن أو مسطحات محدودة في أبعادها وأحجامها. والأشياء المعقمة يمكن الاحتفاظ بها على صورة معقمة طالما أمكن المحافظة عليها من التلوث الخارجي وعادة يتم التعقيم باتباع طرق تعتمد على أسس فيزيائية أو كيميائية أو ميكانيكية. ومن هذه الطرق هي استخدام الأوتوكلاف.

جهاز الأوتوكلاف

عبارة عن أسطوانة معدنية عادة تصنع من الصلب أو من سبائك معدنية قوية تتحمل ضغط قد تصل إلى٣٠ رطل/ بوصة٢ على الأقل، له غطاء يقفل بإحكام بعد أن توضع به المواد المراد تعقيمها، وبعد التأكد من احتواء الجهاز على الماء إلى الارتفاع المناسب مع ترك الصنبور مفتوحا ثم يوصل التيار الكهربي ويدفع به بخار الماء، وعندما يشاهد البخار خارجا بشدة من الصنبور فإن هذا يعني خلو الجهاز من الهواء وامتلائة بالبخار. عندئذ يقفل الصنبور جيدا ويترك البخار ينضغط بداخل الجهاز حتى يصل إلى الضغط المطلوب وهو١٥ رطل/ بوصة٢ويعرف ذلك بالاستعانة بالمانومتر المتصل بالجهاز.وبالتالي يصل درجة الحرارة إلى ٦و١٢١ مْ وعند هذه الدرجة يحسب وقت التعقيم الذي يختلف باختلاف طبيعة المواد وحجم المواد المراد تعقيمها. بعد انتهاء مدة التعقيم يغلق الجهاز ويترك دون فتح حتى ينخفض الضغط بداخل الجهاز.والشكل التالي يوضح صورة للاوتوكلاف.

صورة جهاز الأوتوكلاف

٣- الحضان الكهربائي Microbiological incubator

هو جهاز يستخدم في تنمية البيئات الملقحة وذلك عن طريق التحكم في درجة الحرارة بواسطة الترموستات.

٤- المجفف الكهربائي Drying oven

جهاز يستخدم لتجفيف العينات، الأدوات المستخدمة وذلك للتخلص من أكبر قدر من الرطوبة.

الأحياء الدقيقة في الأغذية

مصادر التلوث في الأغذية

الجدارة: التعرف على مصادر التلوث في الأغذية (التربة- الهواء- الماء- الإنسان- الكائنات الحية).

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على مصادر التلوث المختلفة بعد إجراء الاختبارات الميكروبيولوجية

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة٩٥٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان الكهربائي- جهاز العد الكلي للبكتريا.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة الى التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

التدريب العملي الأول

انتشار الأحياء الدقيقة في الطبيعية (مصادر تلوث الغذاء)

البيئات المطلوبة :

١- **بيئة الأجار المغذي** Nutrient agar

تستخدم هذه البيئة للحصول على مجاميع معزولة من البكتريا ، وهي تعتبر من أكثر البيئات الصلبة شيوعا في الأعمال البكتريولوجية. وهى عبارة عن بيئة المرق المغذي مضافا إليها الأجار.

الأدوات والمواد اللازمة لتحضير البيئة

١- لتر مرق مغذي بدون ضبط الـ pH.

٢- أجار أجار.

٣- حلة ذات جدارين أو حمام مائي.

٤- دليل بروم ثيمول الأزرق.

٥- صندوق مقارنة الألوان.

٦- محلول ص أ يد١, ع، ٩ ,ع.

٧- ماصات- سحاحات– أقماع- أنابيب اختبار- أطباق بتري معقمة- سدادات قطنية.

طريقة العمل

١- تحضير المرق المغذي والذي يتكون من

مستخلص لحم٣جم، ببتون١٠جم، وماء مقطر١٠٠٠مل.

أ- إذابة المكونات في الماء ثم الغلي في حمام مائي ويضبط الـ pH إلى٧.

ب- الترشيح ثم التعبئة في أنابيب والتعقيم في الأوتوكلاف على١٢١ْم وتحت ضغط ١٥ رطل/ بوصة مربعة ولمدة ١٥دقيقة.

٢- يوضع لتر من المرق المغذي في الحلة ذات الجدارين ويضاف إليه ١٥جم أجار أجار (الأجار بنسبة ١,٥- ٢٪).

٣- تغلى البيئة حتى يذوب الأجار.

٤- إضافة قليلا من الماء لتعويض الفاقد بالتبخير.

٥- ضبط الـ pH إلى٧,

٦- ترشيح البيئة وهى ساخنة في مرشح بوخنر مع استعمال ورق ترشيح مفتت في ماء ساخن وعلى شكل طبقة بين ورقتي ترشيح في هذا المرشح.

طريقة عمل الاختبار

١. سيح بيئة الأجار المغذي على درجة١٠٠ْم ثم يبرد إلى درجة٤٥ْم قبل صب الأطباق.

٢. صب أطباق بتري المعقمة بالأجار ويوزع الأجار في هذه الأطباق، وذلك بتحريك الطبق حركة دائرية بسيطة باتجاه عقرب الساعة وبعكسه، إلى الأمام وإلى الخلف بحيث ينتشر الأجار ويتوزع توزيعاً منتظماً ويراعى عدم التحريك بقوة حتى لا يتلوث غطاء الطبق بالأجار.

٣. يترك الطبق ليبرد الأجار ويصلب.

٤. **بعد صلابة الأجار يجرى ما يلي:**

أ)ينثر قليل من التربة على سطح الأجار.

ب)بأيدي أحد العمال يمسح سطح الأجار.

ت)بأحد الأوعية أو الأواني المستعملة يلمس سطح الأجار.

ث)تنثر بعض العلائق على سطح الأجار

ج)يترك أحد الأطباق لمدة نصف ساعة مكشوفة للهواء.

ح)يكتب على غطاء الطبق نوع المعاملة.

خ)يقلب الطبق بحيث يصير الغطاء إلى لأسفل والقاع إلى الأعلى حتى لا تتساقط قطرات الماء المتكشف في الغطاء على سطح الأجار فيعمل ذلك على تداخل المجاميع البكتيرية فلا يمكن تمييزها.

د)توضع الأطباق بهذه الصورة في الحضان Incubator على درجة٣٧ ^{o}م لمدة ٤٨ ساعة ثم يلاحظ أشكال وأنواع المجاميع النامية على سطح هذا الأجار.

ذ) بعدذلك تفحص كل مجموعة على حدة وذلك بعد معرفة لون وشكل وسطح ونوع الحافة وانتشار هذه المجاميع وذلك بصبغها بطريقة جرام وفحصها ميكروسكوبيا.

التدريب العملي

أمامك بيئة الأجار المغذى والمطلوب اتباع الخطوات المذكورة سابقا لإجراء الاختبار، ثم دون النتائج في الجدول التالي:

م	نوع التلوث	اللون	الشكل	شكل السطح	نوع الحافة	الانتشار
١	التربة					
٢	لمس أحد العمال					
٣	مسح الأواني					
٤	نثر بعض العلائق					
٥	النفخ في الطبق					
٦	ترك طبق معرض للهواء الجوي ٣٠ ق					
٧	مسح الطاولة					
٨	طبق بدون معاملة					

أسئلة

س١ :أكمل العبارات التالية :

١- تتكون بيئة المرق المغذى من- - - - - - - - ،- - - - - - ،- - - - - - - -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

مواصفات المستعمرات البكتيرية

الجدارة: التعرف على المواصفات الخاصة بالمستعمرات البكتيرية.

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتدريب على كيفية تحضير البيئات وتعقيمها جيدا.

٢- أن يقوم المتدرب بالتعرف على شكل المستعمرات البكتيرية ووصفها باستخدام الميكروسكوب المركب.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة ٩٥٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان.

الوسائل المساعدة

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان الكهربائي- جهاز العد الكلي للبكتريا.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة إلى التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

مواصفات المستعمرات البكتيرية

تنمى البكتريا عادة على بيئات خاصة وتستعمل البيئة لأغراض عديدة فتستعمل لحفظ الميكروب واستكثاره ودراسة خواصه الفسيولوجية وتشجيعه على إنتاج مواد تستعمل في الأغراض الصناعية كإنتاج الكحولات والأحماض العضوية وخلافة.

والتدريب التالي يعطينا معلومات حول هذه المستعمرات البكتيرية من حيث:

١- **الشكل:** دائري- اهليجي- مغزلي- مثلث الأقسام- قوقعي- غير منتظم- شكل الوردة- جذري- خيطي(شكل٨).

٢- **التركيب:** حبيبي- متراكم- حبيبي خشن- ذو مناطق دائرية- شبكي- مغصن- مجعد- به مجاميع ثانوية.

٣- **الحافة:** كاملة- هدبية- متموجة- مفصصة- ممزقة.

٤- **الارتفاع:** مسطح- قطري- مرتفع- مدرج- محدب.

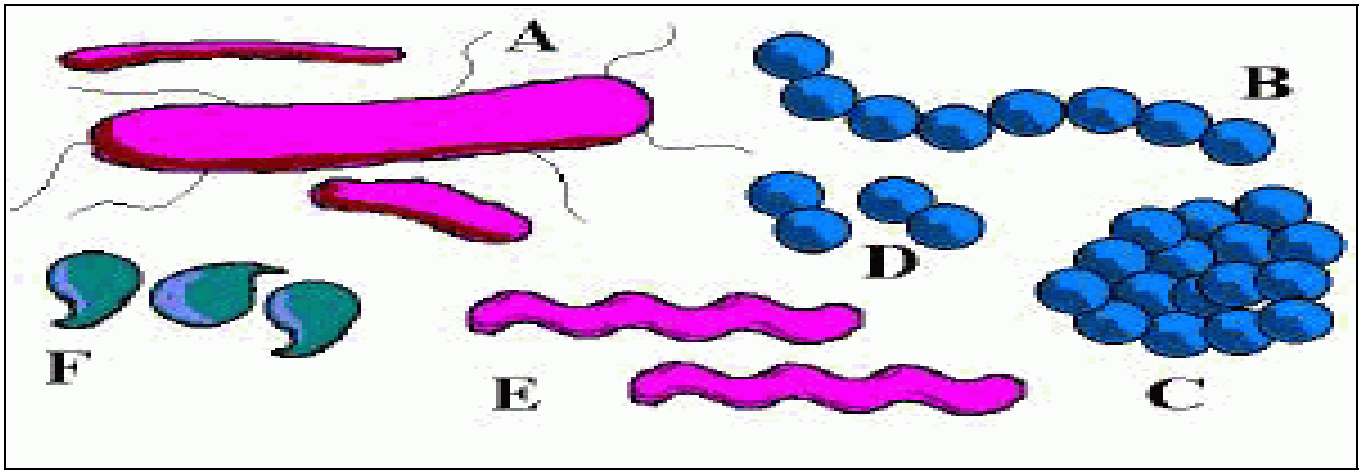
٥- **القوام:** هش- صلب- لزج- مائي- ثقيل.

٦- **اللون:** لون المجموعة ولون البيئة حولها.

٧- **الشفافية:** نصف شفاف- معتم- شفافة.

٨- **الانتشار:** لا حظ ما إذا كانت المجموعة منتشرة على سطح البيئة أو محدودة.

٩- **الحجم:** يقاس قطر بعض المجاميع بالمليمتر في طبق يحتوي على عدد منها وتختلف المجاميع من حيث الحجم وقد يكون بعضها صغيراً جداً يكاد يرى بالعين المجردة وفي هذه الحالة تفحص المجاميع بالعدسة اليدوية أو الـ Binocular ارسم نماذج لبعض المجموعات التي ظهرت مع ملاحظة النقط السابقة.



شكل(٨)أشكال البكتريا

نمو البكتريا والتغيرات الكيماوية الحيوية التي تحدثها في البيئات العادية.

البيئات والأدوات والمواد اللازمة:

١- **بيئة المرق المغذي** Nutrient broth

أ- **مكونات البيئة:** مستخلص لحم٣جم، ببتون١٠جم، ماء مقطر١٠٠٠سم٣.

ب- **طريقة التحضير:**

١- خلط المكونات.

٢- غلي المكونات في الحمام المائي.

٣- يسخن الحمام المائي حتى الغليان مع ملاحظة أن يجب تعويض النقص في الماء نتيجة التبخير.

٤- تترك البيئة حتى تبرد، ثم ضبط الـ pH الى٧أو٢و٧

٥- الترشيح باستعمال مرشح بوخنر.

٦- تعبئة البيئة في أنابيب أو دوارق مناسبة وتغطى بسدادات قطنية ثم تعقم في الاوتوكلاف على درجة حرارة١٢١ مْ وتحت ضغط١٥ رطل/ بوصة مربعة ولمدة١٥ دقيقة.

٢- **بيئة الجيلاتين المغذى** Nutrient gelatin broth

الأدوات والمواد اللازمة:

لتر مرق مغذي بدون ضبط الرقم الأيدروجينى- جيلا تين، حمام مائي- دليل بروم ثيمول الأزرق- محلول هيدروكسيد الصوديوم ٩و٠ع، ١ و٠ع- صندوق مقارنة الألوان- ماصات- سحاحات- أنابيب اختبار- قمع ترشيح- قطن.

طريقة التحضير:

١- ضع المرق المغذى في الحمام المائي ثم أضف إليه الجيلاتين بنسبة ١٥٪.

٢- سخن البيئة حتى يذوب الجيلاتين.

٣- أضف الماء لتعويض الفاقد بالتبخير.

٤- اضبط الـ pH الى٧,

٥- رشح البيئة وهى ساخنة في قمع بوخنر.

٦- املأ الأنابيب بحوالي٧سم٣لكل أنبوبة ثم أقفلها بالسدادات القطنية.

٧- عقم في جهاز الأوتوكلاف بالتعقيم المتقطع مدة٢٠ دقيقة على٣أيام متتالية.

٣- **بيئة الأجار المغذى المائل** Nutrient agar broth slant

التحضير مثل بيئة الأإجار الصلبة فيما عدا عند التعبئة تعبأ كل أنبوبة بواقع ٥ مل ثم تعقم وبعد خروجها من جهاز الأوتوكلاف توضع في وضع مائل حتى يتصلب الاجار.

٤- **بيئة لبن دوار الشمس** Litmus milk

الأدوات والمواد اللازمة:

لبن فرز(مجفف) ١٠٠جم، دليل عباد الشمس١ جم، ماء مقطر١٠٠٠ مل

تخلط المكونات معا ثم التعقيم في جهاز الأوتوكلاف على درجة حرارة١٢١ْ م، لمدة٢٠ دقيقة ولمدة٣أيام متتالية.

٥- **بيئة أجار الجلوكوز العميق**

وتحضر كالآتي:

٠١يحضر١ لتر من بيئة الأجار المغذى المتعادل والمرشح.

٠٢إضافة١٠جم جلوكوز.

٠٣التعبئة في أنابيب وتعقم في جهاز الأوتوكلاف تعقيما متقطعا١٢١ مْ لمدة٢٠ دقيقة يوميا لمدة٣ أيام متتالية.

٦- **المزارع السابقة التي حصلت عليها من الدرس السابق.**

طريقة العمل

٠١لقح مجموعة البيئات السابقة بكل نوع من المزارع على حدة

٠٢تحضن البيئات السابقة على درجة٢٢ مْ لمدة شهر وصف على فترات (يومياً في الأسبوع الأول مرتين أسبوعياً في المدة الباقية) ما تحدثه الميكروبات في كل من البيئات السابقة على النحو التالي:

١- **بيئة المرق المغذي:**

- لاحظ تكوين غشاء على السطح وهل الغشاء مجعد أم أملس أم جلدي أم حلقي وهل الغشاء تحت السطح أم فوق السطح.
- لاحظ ما إذا كانت البيئة عكرة أو رائقة، هل يوجد راسب أم لا. اختبر قوام البيئة لوجود لزوجة من عدمه باستعمال إبرة التلقيح.
- اختبر الرقم الأيدروجيني للبيئة وقارن ذلك ببيئة غير ملقحة.

٢- **بيئة الجيلاتين المغذي**

- تلقح هذه البيئة بطريقة الوخز وتحضن وفي حالة عدم إسالة الجيلاتين يلاحظ شكل النمو فقد

- يكون على هيئة كرات صغيرة متصلة. خيطي- سبحي- معرج- هدبي- شجري.
- وفي حالة إسالة الجيلاتين لاحظ شكل الإسالة فقد يكون إبريقي- فنجاني.

٣- بيئة الأجار المغذي المائل

- لاحظ اللون واللمعان والقوام والشفافية ولون البيئة.

٤- بيئة لبن تباع الشمس:

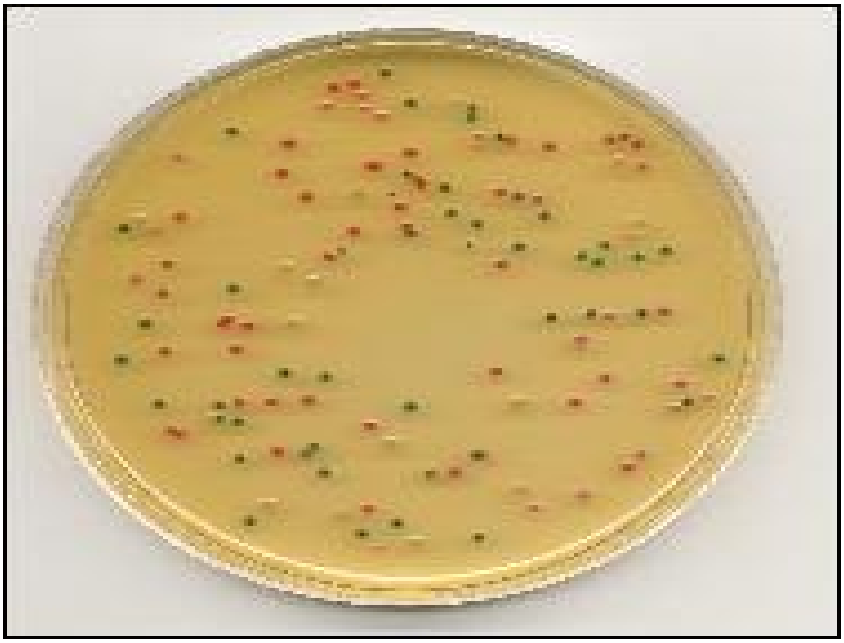
لاحظ التغيرات الآتية:

- لا تتغير في المظهر.
- تجبن.
- تجبن مع ظهور الشر ش.
- إذابة الخثرة لاحظ لون دليل تباع الشمس كما لاحظ تكوين فقاقيع غازية من عدمه.

٥- بيئة أجار الجلوكوز العميق

- لقح هذه البيئة بالوخز.
- لاحظ شكل النمو مثل في بيئة الجيلاتين.
- لاحظ مكان النمو فقد يكون سطحياً (هوائي) أو داخل البيئة عند القاعدة فيكون (لا هوائي) أو في البيئة عموماً فيكون لا هوائيا اختياريا.ً

والشكل التالي يوضح شكل المستعمرات البكتيرية النامية على البيئة في طبق بتري.(شكل٣)



شكل(٣) يبين شكل البكتريا النامية في طبق بتري.

التدريب العملي

أمامك البيئات التي قمت بتحضيرها وهى:-

١- بيئة المرق المغذي.

٢- بيئة الجيلاتين المغذي.

٣- بيئة الأجار المغذي المائل.

٤- بيئة لبن دوار الشمس.

٥- بيئة أجار الجلوكوز العميق.

والمطلوب اتباع الخطوات التي ذكرت وتدوين النتائج في الجدول التالي:

م	نوع البيئة	تكوين الغشاء	حالة البيئة		رقم الـ pH	شكل النمو	اللون	اللمعان	القوام	الشفافية	التجبن
			رائقة	عكرة							
١	المرق المغذى										
٢	الجيلاتين المغذى										
٣	الأجار المغذى المائل										
٤	لبن دوار الشمس										
٥	أجار جلوكوز عميق										

أسئلة

س١ : ضع علامة(✓) أو (X) أمام العبارات التالية مع تصحيح الخطأ :

١- ليس من أشكال البكتريا الشكل الدائري ( )

- -

٢- يجب ضبط الـ pH في بيئة المرق المغذى عند pH=٥)

- .

٣- تعقم البيئة على درجة حرارة٣٧ مْ ( )

- -

٤- يستخدم جهاز الحضان في ضبط حموضة البيئة ( )

- -

٥- يضاف دليل البروموثيمول الأزرق إلى بيئة أجار الجلوكوز العميق. ( ).

- -

س٢ : ما هو السبب في إضافة دليل دوار الشمس إلى البيئة؟

- -

- -

- -

س٣ : ما فائدة كل من:

١- قمع بوخنر:- -

- -

٢- محلول هيدروكسيد الصوديوم ١و٠ عياري:- -

- -

٣- الحمام المائي:- -

- -

٤- الماصات: -

- -

- -

٥- المعقـــم: - - -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

الفطريات في الأغذية

الجدارة: التعرف على المواصفات الخاصة بالفطريات.

الأهداف١

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على مصادر التلوث المختلفة بعد إجراء الاختبارات الميكروبيولوجية

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة ٩٥٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان.

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان الكهربائي.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

الفطريات في الأغذية

الفطريات تنمو على الطعام و يعرف ذلك بمظهرها الزغبي أو الوبري أو القطني التي تتلون في بعض الأحوال، وقد يتغير لونها إلى اللون الداكن، واللون ينتج لتكشف الجراثيم الملونة وظهورها على السطح الذي ينمو عليه الفطر، وعادة الغذاء المصاب بالعفن هذا يكون غير صالح للأكل

عموماً تنتشر الفطريات على نطاق واسع في الجو وفي الأطعمة وخاصة بالأطعمة الحامضية منها وإذا تركت الفطريات بهذه الأطعمة فأنها تنمو على سطحها وتسبب فسادها.

الأدوات والمواد المستعملة:

١- **بيئة أجار المولت** Malt agar

١- **مكونات البيئة:** مستخلص المولت٣٠جم،أجار٢٠جم، ماء مقطر١٠٠٠مل.

تحضير البيئة:

١- تغلي المكونات في حمام مائي بعد خلطها (لإذابة الاجار).

٢- ضبط الـ pH إلى٥,٥

٣- الترشيح والتعبئة والتعقيم في جهاز الأوتوكلاف على١٢١ مْ وتحت ضغط ١٥ رطل/ بوصة مربعة ولمدة ١٥ دقيقة.

٢- **بيئة المولاسا الصلبة:**

مكونات البيئة:

عسل أسود٢٠ جم، أجار٢٠جم، مرق مغذي٩٦٠ مل.

طريقة التحضير:

١- تغلي المكونات بعد خلطها في حمام مائي.

٢- ضبط الـ pHإلى٥,٥

٣- الترشيح والتعبئة والتعقيم في جهاز الأوتوكلاف لمدة ٢٠دقيقة ولمدة ٣ أيام متتالية.

٣- **محلول لاكتوفينول** Lactophenol solution

يتكون محلول اللاكتوفينول من: بلورات الفينول٢٠ جم، حامض لاكتيك٢٠ جم، جليسرين،

٤٠ جم، ماء مقطر٤٠ مل. وتخلط المكونات وتحفظ في زجاجات بنية اللون.أطباق بتربة معقمة.

طريقة العمل:

١- سيح أنابيب أجار المولت وصبها في الأطباق.

٢- بعدأن تجمد البيئة افتح بعض الأطباق وعرضها للهواء مدة٥—١٠ دقائق. ثم اقلب الأطباق واتركها على درجة حرارة المعمل لمدة أسبوع

٣- خذ خمس إبر من كل من الجبن والزبد والشراب والمربى...الخ التي أمامك، ثم لقح بها الأطباق المحتوية على البيئة والمحضرة كما في رقم(١) وذلك بطريقة التخطيط ثم اتركها على درجة حرارة المعمل للأسبوع القادم.

٤- لاحظ نمو مجاميع الفطريات بالأطباق ثم خذ بالإبرة المعقمة المبللة بمحلول جليسرين جزءا من الفطر. يحتوي على ميسليوم وحامل الجراثيم والجراثيم.

٥- ضع هذا الجزء في نقطة من محلول اللاكتوفينول على شريحة زجاجية وغطه بغطاء الشريحة ثم افحصها بالعدسة الصغرى ثم الكبرى. ارسم ما تراه وحاول تعيين نوع الفطر ولاحظ الآتي:

أ- الميسليوم:

مقسم أو غير مقسم.

ب- الجراثيم غير التزاوجية:

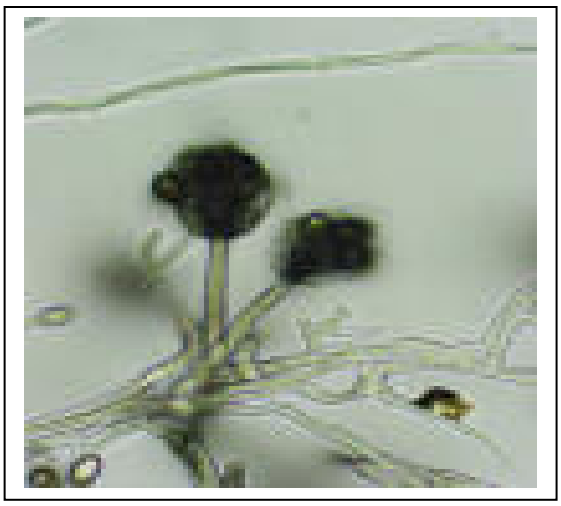
كويندات أو سيرانجيوسبورز حجمها، لونها، شكلها، إذا كانت خشنة أو مسننة، تركيبها خلية واحدة أو اثنين أو أكثر.

ج- أجسام ثمرية:

- إذا كانت سبورانجيوم لاحظ الحجم، اللون والشكل والموضع.
- إذا كانت تحمل كويندات إذا ما كانت واحدة أو أكثر من كويندية على الحامل الكويندي بشكل وتركيب السترجماتا، ترتيب الكويندات ومميزاتها إذا ما كانت الكويندات ملتصقة معها.

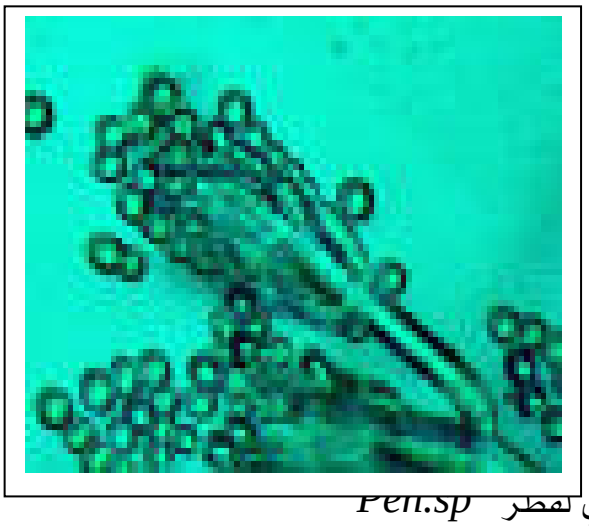
د- **مميزات أخرى**: مثل الستولين الرايزود Foot cell أو إذا كانت مكونة جراثيم كلاميدية أو غيرها.

هـ- ارسم عينات من الفطريات وذلك للتعرف على صفاتها(مستعينا بالأشكال٤، ٥، ٦)الموجودة بالصفحة التالية)



شكل(٤) الشكل المجهري لفطر Rhizopus *nigrecans*

(شكل(٥) الشكل المجهري لفطر *Candida.sp*



شكل(٦)الشكل المجهري لفطر *Pen.sp*

التدريب العملي

أمامك البيئات التي قمت بتحضيرها

١- بيئة أجار المولت.

٢- بيئة المولاسا الصلبة.

والمطلوب اتباع الخطوات التي ذكرت سابقا ثم دون النتائج في الجدول التالي:

م	نوع المادة المستخدمة في التلقيح	الميسليوم		الجراثيم غير التزاوجية				الأجسام الثمرية		
		مقسم	غير مقسم	اللون	الحجم	الشكل	التركيب	اللون	الشكل	الموضع
١	الجبن									
٢	الزبد									
٣	شـــــراب طبيعي									
٤	مربى									
٥	خبز رطب									

أسئلة

س١ : ما هي الفطريات؟ ومم تتركب؟

(١)- - - -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

الخمائر في الأغذية

الجدارة: التعرف على المواصفات الخاصة بالفطريات.

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على أشكال الخمائر التي تحصل عليها بعد إجراء الاختبارات الميكروبيولوجية.

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل الطالب إلى إتقان الجدارة بنسبة ٩٨٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان الكهربائي.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

الخمائر في الأغذية

الخمائر فطريات تتبع عائلات عديدة وهي تتكاثر بالتبرعم أو بالانقسام الثنائي البسيط أو بالتجرثم في الأنواعاً التابعة للاسكوميسيتس *Ascomycetes* وأهمها ما يتبع جنس *Saccharomyces* ويشمل أنواع عديدة منها *S. Cerevisiae* التي تستعمل في صناعياً في تخمير الخبز أو إنتاج الكحول و الجليسيرول وتوجد أنواع أخرى من الخميرة الكاذبة تسمى False yeast التي منها جنس *Torulopsis*وهي تحدث تخمرات غير مرغوب فيها ولكنها تستعمل صناعيا في بعض الأغراض الطبية كما أن بعضها يستعمل كغذاء.

وعموماً تنمو الخميرة في البيئات السائلة على الصورة الآتية:

١. خميرة غشائية Film forming yeastsتؤكسد الأحماض العضوية والسكريات والكحولات.
٢. خميرة سطحية Top yeasts تستعمل في صناعة البيرة المسماة الـ Ale beer.
٣. خميرة قاعية Bottom yeasts تستعمل في صناعة البيرة المسماة لاجر Lager beer.

الأدوات والمواد اللازمة:

أ- بيئة خميرة تتحمل التركيزات العالية Osmophilic yeasts**(بيون السكريات)**

١- يحضر لتر من بيئة المرق المغذى ويضاف إليه السكر المراد اختبار تحلله (الجلوكوز- اللاكتوز- السكروز) بواقع٥ جم.
٢- يضاف محلول دليل بروم ثيمول الأزرق١مل.
٣- تملا الأنابيب ويوضع بكل منها ٧ مل مع وضع أنبوبة در هام.
٤- التعقيم في جهاز الاوتوكلاف على درجة حرارة١٢١ْ م وتحت ضغط١٥ رطل/ بوصةالمربعة ولمدة ١٥ق.

ب- بيئة مرق الجلوكوز المغذى

مثل بيئة بيون السكريات مع إضافة سكر الجلوكوز٥جم.

ج- بيئة لبن دوار الشمس: ذكرت سابقا.

د- دليل بروموثيمول الأزرق:

الدليل ١٦جم، كحول٩٥٪ ٥٠٠مل، ماء مقطر٥٠٠ مل، حيث يذاب الدليل في الكحول ثم يضاف الماء والترشيح.

هـ- بيئة أجار عصير البرتقال المائل: تتكون من:-

تربتون١٠جم، مستخلص الخميرة٣ جم،جلوكوز٤ جم، فوسفات ثنائي الصوديوم٣ جم، عصير برتقال٢٠٠ مل،أجار٥و١٪ أجار أجار، ماء مقطر٨٠٠ مل يحضر عصير البرتقال بتسخين لتر من العصير الطازج إلى٩٣°م تقريبا ثم الترشيح في مرشح بوخنر ثم التعقيم على١٥ رطل لمدة١٥ دقيقة.

بالإضافة إلى ما سبق يجب أن تتوفر المواد الآتية:

١- مزرعة من خميرة (حقيقية) مثل الـ *S . cerevisiae*.

٢- مزرعة من خميرة (كاذبة) مثل الـ *Torula*

٣- بيئة مرق السكروز المغذي بنسبة١، ٢٠، ٤٠، ٦٥ سكروز.

٤- عصير الكرنب (اللاهانة).

٥- مرق اللاكتوز المغذي.

٦- بيئة جرودوكوا Gorodkowa.

طريقة إجراء الاختبار

قم بتحضير البيئات السابق ذكرها ثم استخدامها في إجراء التجارب التالية

١- خمائر تعيش تحت ضغط أسموزي مرتفع Osmophilic yeasts

أ) لقح كل من الأنابيب المحتوية على بيئة مرق السكروز بنسبة١٪، ٢٠، ٤٠، ٦٥ بمزرعة من الـ Osmophilic yeasts مثل *Zygosaccharomyces sp* ومجموعة مماثلة من البيئة السابقة بمزرعة خميرة الخباز *S. cerevisiae* .

ب)حضن الأنابيب السابقة في درجة حرارة المعمل لمدة تتراوح من٥–٧ يوم ثم لاحظ مقدار النمو وذلك بالتغير الظاهر في البيئة وكذلك الغاز المتكون في التركيزات المختلفة.

٢- الخميرة الغشائية Film yeasts

أ- لقح أنبوبة محتوية على عصير الكرنب Sauer kraut juice (٥ مل) بخميرة غشائية وأخرى بخميرة *S. cerevisiae* قدر الرقم الأيدروجيني للعصير قبل ا لتحضين بواسطة pH-meter أو بواسطة ورق الرقم الأيدروجيني.

ب- حضن الأنبوبتين في درجة حرارة المعمل ولمدة٧أيام لاحظ شكل النمو ورائحة كل من الأنبوبتين ثم قدر الرقم الأيدروجيني في العصير لكل أنبوبة.

٣- **الخمائر المخمرة للسكر** Sugar fermenting yeast

أ- لقح أنبوبة من مرق الجلوكوز وأنبوبة من مرق اللاكتوز وثالثة من بيئة لبن تباع الشمس بنوع من الخميرة الكاذبة التي تخمر اللاكتوز (*Torula*) ثم لقح مجموعة أخرى من البيئات الأخرى بخميرة بيرة التي لا تخمر اللاكتوز.

ب- حضن الأنابيب على درجة حرارة المعمل لمدة٢–٥ يوم ثم اختبره للآتي:النمو، تكوين الغاز، مقدار التعكير والراسب في بيئة المرق، تكوين الغاز والتغير في الرقم الأيدروجيني في بيئة اللبن، رائحة الأنابيب.

٤- **الخميرة الحقيقية**: Ascospore Forming

أ- لقح بيئة أجار عصير البرتقال المائل Orange juice sugar slantأو بيئة جور ودكوا Gorodkowa بنوع *S. cerevisiae* ونوع *Zygosaccharomyces* .

ب- حضن على درجة حرارة٢٥°م ثم اختبر كل أسبوع لمدة تتراوح من٢–٣ أسابيع للجراثيم الاسكية وللتزاوج ثم دون النتائج المتحصل عليها في جدول.

التدريب العملي

أمامك البيئات التي قمت بتحضيرها وهى:-

١- مزرعة من خميرة (حقيقية) مثل الـ *S . cerevisiae*.

٢- مزرعة من خميرة (كاذبة) مثل الـ *Torula* .

٣- بيئة مرق السكروز المغذي بنسبة١٠ ، ٢٠ ، ٤٠ ، ٦٥٪ سكروز.

٤- عصير الكرنب (اللاهانة).

٥- مرق اللاكتوز المغذي.

٦- بيئة جرودوكوا Gorodkowa.

والمطلوب اتباع الخطوات التي ذكرت في الدرس العملي، وتدوين النتائج في الجدول التالي:

م	وجه المقارنة	الخمائر الأسموزية	الخمائر الغشائية	الخمائر المخمرة للسكريات	الخمائر الحقيقية
١	النمو				
٢	التغير في البيئة				
٣	تكوين الغاز				
٤	الرائحة				
٥	رقم الـ pH				
٦	مقدار التغير في البيئة				
٧	مقدار التعكير				

أسئلة

س١ : أكمل العبارات التالية :

١- الخمائر هي - - - - - - - - - - - - - - وهى تتكاثر - - - - - - - أو- - - - - - - - - - - - - - -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

بكتريولوجيا المياه

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على شكل البكتريا الموجود في الماء ووصفها وإجراء العد الكلي.

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة ٩٥٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان.

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان الكهربائي- جهاز العد الكلي للبكتريا.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

بكتيريولوجيا المياه

تقدر صلاحية المياه للشرب بأربع تحاليل هي:

١- التحاليل الكيماوية:

تقدر فيها الجوامد الكلية والعسر المائي Hardness كذلك يختبر الماء لأنواع من الكيماويات المضرة للإنسان مثل الرصاص السام وأملاح الزنك.

٢- الاختبارات الفيزيائية:

ويختبر فيها عما إذا كان بالمياه عكارة واللون والطعم والرائحة

٣- الاختبارات البيولوجية:

ويفحص فيها عن وجود الطحالب والفطريات والبروتوزوا وديدان النيماتودا ، عذراء الحشرات التي تنمو على المياه.

٤- الاختبارات البكتريولوجية:

وهي مهمة في تحديد مدى صلاحية المياه للشرب ومدى إمكانية وجود الماء ملوثاً.

التقدير الكمي لبكتريا المياه: The quantitative examination of water

الطريقة المتبعة عادة للتقدير الكمي البكتريولوجي المتبع في اختبار المياه لا يعطي سوى جزء من العدد الكلي للبكتريا فيها إذ أن معظم الميكروبات الموجودة في الماء التي لا تنمو على البيئات المعملية وعلى العموم لا يهم البكتريولوجي أن يحصل على العدد الكلي للبكتريا في المياه بقدر اهتمامه بمجموعة بكتريا القولون التي قد تصل إلى المياه عن طريق التلوث بمياه المجاري أو بالمواد البرازية. ولاختبار صلاحية عينة ماء لأغراض الشرب واستخدام المنزلي في المصانع يجري عليها الآتي:

١- عدد البكتريا الكلي في عينة المياه.

٢- اختبار تلوث العينة بمياه المجاري.

طريقة أخذ العينة:

تؤخذ عينة المياه في زجاجة معقمة ويجب أن تمثل العينة مصدر المياه المطلوب فحصة بكتريولوجيا مع الاحتراس من تلوث العينة أثناء أخذها أو نقلها. وعند أخذ العينة من ماء الحنفية يلاحظ تعقيم فوهة الحنفية باللهب ثم ترك الحنفية مفتوحة لمدة خمس دقائق قبل أخذ العينة. وتؤخذ العينة من الأنهار والترع

والبحيرات من تحت سطح الماء وذلك بغمر زجاجة العينة مقفولة تحت سطح الماء ثم فتح غطائها تحت سطح الماء. يجب أن يجرى اختبار المياه مباشرة وإذا طال الوقت من أخذ العينة لإجراء الاختيار عن ٣ ساعات فيجب أن تحفظ العينة في ثلاجة أو في صندوق خاص معد لتبريد وحفظ العينات.

عد البكتريا الكلي في عينة المياه:

البيئات المطلوبة

بيئة أجار التربتون والجلوكوز ومستخلص الخميرة

١- تتكون هذه البيئة من تربتون٥ جم، مستخلص الخميرة ٢٫٥ جم، جلوكوز١ جم، اجار٢٠ جم، ماء مقطر١٠٠٠مل.

٢- تذاب المكونات في الماء ثم تغلى في حمام مائي(حتى يذوب الأجار)، ثم يعوض النقص بالتبخير بإضافة الماء ثم اضبط الـ pH إلى ٧، ثم رشح في القطن وفي النهاية عبئ وعقم على ١٢١ °م وتحت ضغط١٥ رطل/بوصة٢ لمدة١٥دقيقة.

الأدوات والمواد اللازمة:

- زجاجة عينة معقمة.
- ٦ أطباق بتري معقمة.
- ٦ أنابيب اختبار تحوي كل منها على ٩ مل ماء معقم
- ٣ ماصات١ مل معقمة.
- ٦ أنابيب من بيئة أجار التربتون والجلوكوز ومستخلص الخميرة.

طريقة العمل:

١- رج عينة المياه جيداً٢٥ مرة.

٢- انقل بواسطة ماصة معقمة مقدار١ مل من الماء إلى الأنبوبة المحتوية على٩ مل ماء معقم فيصبح التخفيف ١/١٠

٣- اخلط الأنبوبة١/١٠ جيداً باستعمال ماصة معقمة جديدة ثم انقل بواسطة هذه الماصة١ مل من هذه الأنبوبة إلى أنبوبة أخرى بها٩ مل ماء معقم فيكون التخفيف١/١٠٠

٤- اخلط بماصة معقمة جديدة محتويات الأنبوبة (تخفيف١/١٠٠) ثم انقل بواسطتها١ مل إلى طبق بتري، وكرر ذلك في طبق آخر.

٥- بنفس الماصة كرر ما سبق في الخطورة ٤) من أنبوبة تخفيف١/١٠٠٠

٦- بنفس الماصة كرر ما سبق من عينة الماء الأصلية.

٧- اكتب على كل طبق التخفيف.

٨- سيح أنابيب الأجار العميق ثم برد إلى٥٠ْم وصب كلاً منها في أحد أطباق بتري السابقة مع مراعاة شروط التعقيم وأغلق الأطباق جيدا واتركها حتى تتصلب.

٩- حضن الأطباق مقلوبة في الحضان على ٣٧ْم لمدة ٤٨ ساعة ثم عد المجاميع باستعمال صندوق العد على أن يكون الطبق المستخدم في العد محتويا على مجاميع يتراوح عددها بين٣٠- ٣٥.

١٠- خذ المتوسط الحسابي لكل طبقين من تخفيف واحد ثم اضرب في مقلوب التخفيف فينتج عدد البكتريا الموجود في١ مل من العينة.

اختبار تلوث العينة بمياه المجاري:

يعتبر الماء صالحاً للشرب عادة إذا كان خالياً من ميكروبات القولون بشرط أن يكون خالياً من المواد السامة ومجموعة القولون هي ميكروبات عصوية غير متجرثمة. تحلل سكر اللاكتوز مع إنتاج حامض وغاز وهذه المجموعة توجد عادة في أمعاء الإنسان والحيوان ذي الدم الحار وعلى ذلك فوجودها في الماء يدل على تلوثه ببراز مثل هذه الحيوانات ونظراً لأن الكشف عن الميكروبات المرضية من الصعوبة بمكان وتحتاج إلى وقت طويل ففي العادة تختبر المياه لوجود مجموعة القولون من عدمه فإذا وجدت هذه المجموعة في المياه فإن ذلك يدل على تلوثها بمياه المجاري واحتمال وجود ميكروبات مرضية وتكون المياه غير صالحة للشرب.

واختبار المياه لهذه البكتريا يجرى في العادة على ٣ خطوات:

١- **الاختيار الاحتمالي** Presumptive test

لاختبار وجود مجموعة القولون يجري ذلك الاختبار بتلقيح بيئة بويون اللاكتوز أو بيئة ماكونكى MacConkey السائلة بعينة المياه المطلوب فحصها فإذا تكون غاز حوالي١٠٪ أو أكثر من حجم أنبوبة درهام في ظرف٢٤ ساعة فإن هذا الاختبار يكون موجبا أما إذا تكون غاز في هذه البيئة بعد٢٤ ساعة أخرى فإن نتيجة الاختبار يكون مشكوكا فيه وعلى ذلك تجرى الاختبارات الأخرى. أما عدم وجود الغازات بعد ٤٨ ساعة فيؤخذ ذلك دليلاً على أن الماء غير ملوث وصالحٍ للشرب ولا داعي لإجراء أي اختبارات أخرى ولإجراء الاختبار الاحتمالي تتبع الخطوات الآتية:

١. عينة المياه .

٢. أنابيب فيها بيئة ماكونكي السائلة وتحتوي على أنابيب در هام.

٣. ماصات١سم^{٣} معقمة، ماصات١٠ سم ^{٣} معقمة.

بيئة ماكونكي السائلة MacConkey, s bile salt broth

المكونات:

ملح الصفراء Bile salt٥ جم، سكر لاكتوز١٠ جم، ببتون٣٠ جم، ص كل٥ جم، ماء مقطر ١٠٠٠ سم٣.

التحضير:

١. تخلط المكونات مع الماء ثم تسخن في حمام مائي للذوبان.
٢. ضبط الـ pH إلى ٤و٧ وترشح في مرشح بوخنر.
٣. إضافة الدليل (بروموكريزول بربل١٪)
٤. تعبأ الأنابيب بواقع١٠ مل في كل أنبوبة مع وضع أنبوبة در هام
٥. تعقم في جهاز الأوتوكلاف على١٢١ مْ ولمدة٢٠ دقيقة ولمدة٣ أيام متتالية

طريقة العمل:

١- لقح أنبوبة ماكونكي بمقدار١مل من عينة المياه.
٢- حضن الأنابيب على درجة٣٧ْم.
٣- اختبر الأنابيب لوجود حامض وغاز بعد٢٤ ساعة فإذا لم يتكون غاز حضن لمدة٢٤ ساعة وأخرى ثم دون نتيجة وجود الغاز من عدمه بعد كل مدة٢٤ ساعة و٤٨ ساعة.
٤- إذا لم يتكون غاز بعد٤٨ ساعة تعتبر النتيجة سلبية ولا تجرى أي اختبارات أخرى أما إذا تكون الغاز فتجرى الاختبارات التالية.

٢- الاختيار التحقيقي Confirmatory test

إذا كان الاختبار الاحتمالي سابق الذكر مشكوكاً فيه بمعنى ظهور أي كمية من غاز بعد٤٨ ساعة بعد التحضين فيجب إجراء الاختبار التحقيقي فيستعمل عادة إحدى بيئتين صلبتين في الاختبارالتحقيقي وهما:

١- بيئة Eosine methylene blue يرمز لها EMB.
٢- بيئة Endo agar.

و يلاحظ الآتي:

١- مجاميع تظهر على بيئة E.M.B ذات مركز أسود ولمعان معدني مخضر تسمى Brown colony with metallic sheen(تشبه الكوبيا)، وهذه هي مجاميع *E. coli* بينما تظهر مجاميع *A. aerogenes* على هذه البيئة بنية المركز وخالية من اللمعان المعدني.

٢- إذا استعملت بيئة الاندو أجار تظهر مجاميع *E. Coli* ذات مركز غامق وتتلون البيئة حولها بلون أحمر غامق وقد يكون أولاً لها لمعان معدني أما مجاميع A. *Aerogenes* فلا يظهر لها المركز الغامق وتكون معتمة وردية اللون.

الأدوات والمواد المستعملة:

١- أطباق بتري تحتوي على بيئة Endo agar & EMB.
٢- أنابيب ماكونكي التي أظهرت اختباراً موجباً أو مشكوكاً فيه.
٣- مزرعة*E. coli* عمرها ٢٤ ساعة في مرق مغذي.
٤- مزرعة Aerobacter *aerogenes* عمرها ٢٤ ساعة في مرق مغذي

بيئة الايوسين مثلين بلو: Eosin methlene blue agar

تحضر هذه البيئة بإضافة كمية معلومة من اللاكتوز مع صبغتين الايوسين Eosine والمثيلين بلو إلى الأجار المغذي ثم يصب المخلوط في أطباق بتري فيتوقف لون المجاميع التي تظهر على هذه البيئة على العاملين الآتيين:

١- تفاعل الايوسين(وهي صبغة حامضية) مع المثيلين الأزرق(وهي صبغة قاعدية) لتكون صبغة مركبة ذات خواص حامضية أو متعادلة.

٢- تكوين كمية من الأحماض نتيجة لتخمر اللاكتوز من شأنها خفض الرقم الهيدروجين مسببا امتصاص الصبغة المركبة على الخلايا المكونة للمجموعة

ويلاحظ أن الميكروبات التي لا تخمر اللاكتوز غالباً ما تكون شفافة (لا لون لها) إذ أن الصبغة المركبة لا تؤخذ على الخلايا في وسط قلوي وإنما تظهر البيئة في لون أحمر.

بيئة أجار الايوسين والمثيلين الأزرق Eosine methylene blue agar

المكونات:

ببتون١٠ جم، فوسفات ثنائي البوتاسيوم٢ جم،أجار٢٠ جم، ماء١٠٠٠ مل.

التحضير:

١- اخلط المكونات ثم اغلي حتى الذوبان في حمام مائي مع إضافة الماء لتعويض الفاقد بالتبخير.

٢- تعبأ في دوارق بواقع١٠٠ مل ثم تعقم على١٢١ْ م وتحت ضغط ١٥ رطل/ بوصة ٢ و لمدة ١٥ ق.

٣- عند الاستعمال تسيح البيئة بالدوارق في جهاز الأوتوكلاف ثم يضاف إليها كل من: سكر اللاكتوز١ جم، محلول الايوسين المائي٢٪ ٢ مل، محلول المثيلين الأزرق المائي٥و٠٪٣و١ مل.

٤- اخلط المكونات جيدا ثم ضع الدوارق في جهاز الأوتوكلاف لمدة٥ دقائق، ثم بردإلى٥٠ْ م وصب في أطباق بتري المعقمة.

طريقة العمل

١- سيح بيئة EMB وبردها إلى درجة٤٥ْ م قسم قاع الطبق إلى قسمين بواسطة قلم شمع.

٢- لقح قسماً بواسطة مزرعة *E. Coli* والآخر بواسطة مزرعة *A. aerogenes* وفي طبق آخر لقح بالخليط أي بالمزروعة التي أثبتت نتيجة موجبة وذلك بطريقة التخطيط.

٣- بعد فترة التحضن اختبر المجاميع ودون النتائج.

بيئة أجار إندو Endo agar

المكونات

ببتون ١٠ جم، فوسفات ثنائي البوتاسيوم٥و٣ جم، أجار٢٠ جم، ماء مقطر١٠٠٠ مل.

التحضير

١- اخلط المكونات ثم اغلي حتى الذوبان في حمام مائي

٢- أضف ماء لتعويض التبخير

٣- املأ دوارق بواقع١٠٠ سم لكل منها

٤- عقم في الاوتوكلاف على درجة حرارة١٢١ْ م وتحت ضغط١٥ رطل/بوصة مربعة ولمدة ١٥ ق

٥- عند الاستعمال تسيح البيئة بالدوارق في جهاز أر نولد ثم يضاف الآتي لكل دورق(١٠٠ مل)، لاكتوز ١ جم، كبريتيت الصوديوم٥و٢ جم، ١ مل محلول الفوكسين القاعدي في الكحول٥٪، ماء مقطر٢مل.

٦- رج الدورق ثم عقم في أر نولد لمدة٥ دقائق.

٧- برد إلى٥٠ مْ ثم صب في أطباق بتري المعقمة.

٣- **الاختيار التكميلي** Completed test

يجرى هذا الاختبار عادة للتأكد أن مجاميع *A. aerogenes, E. coli* التي ظهرت على أطباق EMB في الاختبار السابق تبع مجموعة القولون ويشمل:

١- أن الميكروب المعزول من الاختبار الاحتمالي يستطيع أن يخمر اللاكتوز ثانية.

٢- أن المجاميع النامية على البيئتين السابقتين والتي تظهر تحت الميكروسكوب عند فحصها بطريقة جرام خلايا عصوية قصيرة سالبة لصبغة جرام غير متجرثمة فإنها تتبع مجموعة القولون.

الأدوات والمواد اللازمة

١- طبق يحتوي على بيئة E. M. B والتي ظهرت عليه مجاميع حقيقية، وغير حقيقية لمجموعة القولون.

٢- بيئة ماكونكي وبها أنبوبة درهام.

٣- أجار مغذي سائل.

٤- شرائح نظيفة

٥- صبغة جرام.

طريقة العمل

١- خذ بواسطة أبره معقمة جزءاً من مجموعة الـ Coli form النامية على بيئة E.M.Bولقح بها أنبوبة ماكونكي وكذلك أنبوبة الأجار المائل.

٢- ضع الأنابيب في الحضان على درجة٣٧ °م .٣- بعد ٢٤ ساعة اعمل غشاء من الأجار المائل واصبغه بطريقة جرام وافحص الميكروب (خلايا عصوية قصيرة، سالبة لجرام وغير متجرثمة).

٤- بعد ٤٨ ساعة اختبر أنابيب ماكونكي لوجود حامض وغاز.

٥- يكون الاختبار التكميلي موجبا إذا كانت النتيجة إيجابية بالنسبة للخطوتين السابقتين(٣، ٤).

التفرقة بين أفراد مجموعة القولون

مجموعة القولون: تشمل ٣ تحت مجاميع هي

١- *E. coli*

٢- *(intermediate) E. freundii*

٣- *A. aerogenes*

وتبين التفرقة على نتائج الاختبارات الآتية:

١- اختبار الإندول

٢- اختبار أحمر الميثايل

٣- اختبار Voges-proskauer

٤- اختبار السترات

يلاحظ الآتي:

٠١أن كل الميكروبات السابقة في المحتمل تلوثها بالبراز.

٠٢إذا حدث تلوث في المياه من عدة مصادر فمن المحتمل أن يوجد بها *E. coli* ولكن إذا كان التلوث من مصدر واحد خلاف البراز فقد يوجد في المياه الأنواع الأخرى بدون وجود *E. coli*

وفيما يلي هذه الاختبارات:

اختبار الإندول

تستطيع بعض الميكروبات أن تحلل الحامض الأميني Tryptophane مع إنتاج مركبة الأندول وتستعمل هذه الظاهرة في التعرف على بعض الميكروبات.

الأدوات:

١- مزرعة *E. coli* عمرها ٢٤ ساعة في المرق المغذى.

٢- مزرعة *A. aerogenes* عمرها ٢٤ ساعة في المرق المغذى.

٣- أنابيب تحتوي على مرق التريبتون، الذي يتكون من:-

تربتون٥جم، مستخلص الخميرة٥و٢ جم، جلوكوز١جم، أجار٢٠جم، ماء مقطر١٠٠٠مل.

كيفية تحضير البيئة

أ- تذاب المكونات في الماء ثم تغلى في حمام مائي (حتى يذوب الاجار)

ب- يعوض النقص بالتبخير بإضافة الماء.

ج- ضبط الـ pH إلى٧، ثم رشح في القطن.

د- يعبأ ويعقم على١٢١ْ م وتحت ضغط١٥ رطل/بوصة مربعة لمدة ١٥ دقيقة.

٤- ورق حامض الاكساليك.

٥- دليل ارليك بوم Ehrlich- Bohme وهو يتكون من محلولين:

محلول (أ)

٩٥ مل كحول٩٥٪، Paradimethyl amino benzaldhyd ١جم، حامض الايدروكلوريد مركز٢٠ مل، يذاب الألدهيد في الكحول ثم يضاف الحامض مع التقليب المستمر.

محلول (ب)

محلول مائي مشبع من فوق كبريتات البوتاسيوم. يخلط المحلولان (أ ،ب).

طريقة العمل:

١- لقح٣ أنابيب مرق التريبتون بميكروب*E. Coli* ومرة أخرى *A. aerogenes*.

٢- خذ أنبوبة من الأنابيب الملقحة بكل من *E. Coli*، *A. aerogenes* وضع لكل منها ورقة حامض الأكساليك التي تثبت في الغطاء القطني.

٣- ضع الأنابيب في الحضان على ٣٧ْم لمدة يومين.

٤- بعد فترة التحضين اختبر الإندول.

طرق الكشف عن الإندول

١- طريقة حامض الاكساليك:

إذا تكون الإندول فإن ورق حامض الاكساليك يتلون باللون الوردي إذا أن الإندول مادة طيارة. فإذا تكونت بفعل الميكروب فإنه يتحد مع بلورات حامض الاكساليك مكوناً لوناً وردياً ويعتبر هذا الاختبار خاص للإندول.

٢- طريقة Ehrlich

خذ أنبوبة لكل من الأنابيب الملقحة بكل من الميكروبين *E. Coli* و*A. Aerogenes* المحضنة على درجة٣٧ْم وضع في كل منهما١سم٣ محلول Ehrlich.A و١سم٣محلول Ehrlich.B فيتكون لون أحمر وردي في حالة وجود الإندول.

ملحوظة:

قد يجرى اختبار الإندول بوضع بضع نقاط من محلول.Ehrlich A. B على قطعة قطن ماص ثم وضع قطعة القطن داخل الأنبوبة بحيث تعلو على سطح المزرعة بمقدار٣- ٤ سم ثم توضع الأنبوبة في ماء يغلي لمدة١٥دقيقة فوجودالإندول بالمزرعة يكون لوناً أحمر وردياً على قطعة القطن إذ أنه يتطاير ويتفاعل مع الدليل ويجب عند إجراء الاختبار استعمال بيئة خالية من الكربوهيدرات وإلا فلا يمكن الاعتماد على النتائج.

٣- اختبار أحمر الميثيل

يعتبر اختبار أحمر الميثايل كدليل على كمية الحامض المتكونة بواسطة أفراد مجموعة الـ Coli formفعند تخمر كمية معلومة من الكربوهيدرات فإن *E. Coli* تنتج كمية من الحامض أكثر من *A. aerogenes* وعلى ذلك يستعمل هذا الاختبار للتمييز بينهما فالأولى تنتج كمية من الحامض كافية لتغير لون دليل أحمر الميثايل إلى اللون الأحمر بينما الثانية تنتج من الحامض ما يكفي لتغير لون الدليل فيظل لونه أصفر.

الأدوات والمواد المستعملة

١- مزرعة *E.coli* في بيئة المرق المغذى وعمرها٢٤ ساعة.

٢- مزرعة *A. aerogenes* في بيئة المرق المغذى وعمرها٢٤ ساعة.

٣- أنابيب بويون الجلوكوز(مرق الجلوكوز المغذى).

٤- دليل احمر الميثيل.

كيفية تحضير البيئة: تم ذكرها سابقا.

طريقة العمل

١- لقح أنبوبة من بيئة الجلوكوز بميكروب *E.coli*والأنبوبة الأخرى بميكروب *A. aerogenes* واترك أنبوبة بدوت تلقيح.

٢- ضع الأنابيب في الحضان على درجة حرارة ٣٧ْم لمدة ٢- ٥ يوم

٣- أضف ٥ نقاط من دليل أحمر الميثيل إلى كل أنبوبة ثم امزج جيدا.

النتيجة:

وجود لون أحمر يدل على أن الاختبار موجب بينما اللون الأصفر يدل على أن الاختبار سالب.

٤- **اختبار الـ** Voges-proskauer test

ينشأ من عملية التحويل الغذائي لبعض المركبات تكوين مواد الغرض منها معادلة الأحماض الناتجة حتى يتفادى الميكروب الوسط الحامضي مثل استيايل ميثايل كاربينول وتعتبر هذه العملية عملية تعادل Neutralization mechanism ويمكن الكشف عن هذا المركب باختبار V. P.

ويستخدم هذا الاختبار للتمييز بين *E.aerogenes,E. coli* لأن الثانية تكون اسيتايل ميثيل كاربينول بينما الأولى لا تكونه ويعتبر هذا الاختبار عكس الاختبار السابق والاسيتايل ميثايل كاربينول بوجود الصودا الكاوية والهواء الجوي يتأكسد إلى Diacetyl الذي يعطي Alphanaphthol والحامض الأميني الأرجنين الموجود بالببتون (الموجود بالبيئة) اللون الأحمر.

الأدوات والمواد المستعملة

١- مزرعة *E. coli* في بيئة المرق المغذى وعمرها ٢٤ ساعة

٢- مزرعة *A. aerogenes* في بيئة المرق المغذى وعمرها ٢٤ ساعة.

٣- أنابيب مرق الجلوكوز والفوسفات والببتون.

٤- محلول الألفانفثول أو مسحوق الكرياتين.

٥- محلول ص أ يد أو بوأ يد ٤٠٪.

كيفية تحضير البيئة

ببتون٥ جم، بو ٢يد فوأ٤ ٥جم، جلوكوز٥جم، ماء مقطر١٠٠٠ سم٣.

تخلط المكونات ثم تغلى في حمام مائي. ترشح بواسطة قمع بوخنر وتعبأ ثم تعقم لمدة٢٠ دقيقة ولمدة ثلاث أيام متتالية.

محلول الألفانفثول: الفانفثول٥ جم، كحول٩٥ ٪ ويكمل إلى١٠٠ سم٣.

طريقة العمل

١- لقح أنبوبة مرق الجلوكوز والفوسفات والببتون من مزرعة *E.coli* وأخرى من مزرعة *A. aerogenes* والأخرى بدون تلقيح للمقارنة.

٢- حضن الأنابيب على٣٧°م لمدة ٤٨ ساعة.

٣- بعد التحضين أضف١ سم٣ من ص أ يد وبضع نقط من الألفانفثول أو مسحوق الكرياتين ثم امزج واترك الأنابيب٢- ٤ ساعة ثم اقرأ النتيجة.

النتيجة: يتكون لون أحمر على السطح في حالة ما إذا كان الاختبار موجبا.

٥- اختبار تمثيل السترات

يستطيع *A. aerogenes* وبعض (intermediate) أن يستخدم سترات الصوديوم كمصدر وحيد للكربون في بيئة مكونة من أملاح معدنية ولكن *E. coli* لا تستطيع. وعندما تكون النتيجة موجبة فيدل ذلك على أن الميكروبات هي *A. aerogenes* وعدم مقدرة *E. coli* على النمو في بيئة السترات ويستخدم هذا الاختبار للتفرقة بينها ويسمى هذا الاختبار باختبار كوزر.

الأدوات والمواد المستعملة

١- مزرعة *E. coli* في بيئة المرق المغذى وعمرها ٢٤ ساعة.

٢- مزرعة *A. aerogenes* في بيئة المرق المغذى وعمرها٢٤ ساعة.

٣- أنابيب تحتوي على بيئة السترات.

كيفية تحضير البيئة:

فوسفات الأمونيوم والصوديوم٥و١ جم- فوسفات بوتاسيوم أحادى الأيدروجين١جم - كبريتات مغنسيوم مائية٢و٠ جم- سترات الصوديوم٣جم ،ماء مقطر١٠٠٠ سم٣ .تخلط المكونات بالماء ثم تعبأ في أنابيب اختبار وتعقم على ١٥ رطل لمدة١٥ دقيقة.

طريقة العمل

١- لقح أنبوبة من بيئة السترات من مزرعة *E. coli* وأخرى من مزرعة *A. aerogenes* والثالثة بدون تلقيح للمقارنة.

٢- حضن الأنابيب على٣٧°م لمدة٤أيام

٣- بعد فترة التحضين نشاهد النمو من عدمه.

التدريب العملي

أمامك عينة من الماء والمطلوب إجراء الاختبارات عليها للتأكد من نقاوتها وصلاحيتها للاستهلاك الآدمي.

١- قم بتحضير البيئات اللازمة للاختبار(ذكرت سابقا).:

٢- قم باتباع الخطوات المذكورة في الدرس العملي.

اولآ :اختبار تلوث العينة بمياه المجاري

م	حالة البيئة	الاختبار الاحتمالي	الاختبار التحقيقي	الاختبار التكميلي
١	تكون غاز			
٢	لا يتكون غاز			

٣- قم بإجراء مقارنة بين *E.Coli* ، *A. aerogenes*،دون النتائج التي تحصلت عليها من الاختبار بوضع علامة (=) إذا كان الاختبار سلبياً، علامة (+) إذا كان الاختبار موجباً.

م	اختبار	*E .coli*	*A. aerogenes*
١	الأندول		
٢	أحمر المثيل		
٣	اختبار فوكس– بروسكوير (V.P).		
٤	السترات		

أسئلة

س١ : ضع علامة(✓)أو(X) أمام العبارات التالية :-

١- وجود بكتريا القولون دليل على وجود بكتريا ممرضة. ( ).

٢- من ضمن الاختبارات الفيزيائية التي تجرى على المياه تقدير اللون والطعم والرائحة. ( ).

٣- يجرى الاختبار التحقيقي في حالة الشك في احتمال التلوث. ( ).

٤- من الاختبارات التي تجرى للتفرقة بين مجموعة القولون اختبار الاندول. ( ).

٥- من التحاليل الكيماوي للمياه الكشف عن العسر. ( ).

س٢ :أكمل العبارات التالية :-

١- الاختبارات البكتريولوجية تحدد - للمياه.

٢- تضم بكتريا القولون أنواع- - - - - - - - - - - - - - ، - - - - - - - - - - - - - - .

٣- يعتبر الماء صالحا للشرب إذا كان خاليا من - - - - - - - - - - - - ، - - - - - - - - .

٤- وجود غازات في أنبوبة درهام دليل على - .

٥- الميكروبات التي لا تخمر اللاكتوز غالبا ما تكون- .

٦- اختبار تمثيل السترات يعتبر دليلاً على وجود ميكروبات - .

س٣: وضح كيف يمكن التفرقة بين أنواع بكتريا القولون؟

- - - - - - - - - - - - - - - - - - - -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

الإنزيمات البكتيرية

اسم الوحدة: الإنزيمات البكتيرية.

الجدارة: التعرف والكشف عن الإنزيمات التي تنتجها البكتريا.

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على نواتج التحلل الإنزيمي الناتج عن فعل البكتريا ووصفها.

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة٩٨٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان الكهربائي.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

الإنزيمات البكتيرية

تفرز البكتريا عند نموها في بيئة إنزيمات خاصة تقوم بتحليل محتوياتها لكي يسهل امتصاصها وتمثيلها. ونتيجة لعملية التمثيل تتكون مواد ثانوية بالبيئة. ويوجد نوعان من الأنزيمات وهما:

١- إنزيمات خارجية ويفرزها الميكروب خارج الخلية.

٢- وإنزيمات داخلية توجد داخل الخلية وعند موتها وتحللها تخرج هذه الأنزيمات إلى الخارج تختلف البكتريا كثيرا في مقدرتها على إفراز الأنزيمات ويعتبر ذلك من أهم الوسائل للتعرف عليها.

تحليل النشا

النشا مادة كربوهيدراتية مكونة من تجمع الجلوكوز Polymer ومصدره النباتات وهو غير قابل للذوبان في الماء وعلى ذلك فهو ليس في متناول البكتريا.ولبعض الميكروبات القدرة على تحليل النشا وذلك بإفرازها إنزيماً خارجياً يعرف بالاميليز (دياستيز) الذي يحلل جزيء النشا الغروي إلى مالتوز ويستطيع المالتوز أن يدخل خلايا البكتريا حيث يتحلل بفعل أنزيم داخلي مالتيز Maltase.

تقسم الميكروبات من حيث تحليلها للنشا إلى قسمين قسم قادر على تحليل النشا وآخر غير قادر على هذا التحليل وتعتبر هذه الخاصية هامة في التعرف على الميكروبات.

وفيما يلي طريقة إجراء الاختبار:

الأدوات والمواد اللازمة

٠١أنابيب أجار النشا العميق.

٠٢أطباق بتري معقمة.

٠٣مزرعة *E. coli*.

٠٤مزرعة *B. subtilis*.

٠٥محلول اليود.

طريقة العمل

١- سيح أجار النشا ثم برد إلى٥٠ ْم وصب كل أنبوبة في طبق بتري واترك الأجار ليجمد في الأطباق.

٢- لقح أحد الأطباق بعمس إبرة التلقيح من مزرعة *E. coli* في وسط الطبق.

٣- كرر ما سبق في (٢) باستعمال ميكروب *B. subtilis*.

٤- حضن الأطباق لمدة٤٨ ساعة على درجة٣٧ْ م.

٥- بعد فترة التحضين اغمر كل طبق بمحلول اليود.

يلاحظ تكون هالة عديمة اللون حول مجموعة الميكروب المحلل للنشا.وقد تظهر بلون أزرق أولا تظهر هذه الهالة في حالة الميكروب غير المحلل للنشا.

تحليل الجيلاتين

الجيلاتين مادة بروتينية تحضر من تحليل مادة بروتينية غير قابلة للذوبان تسمى Collagen والجيلاتين إذا أذيب في الماء فإنه يكون محلولاً غروياً صلباً، وحيث إن الجيلاتين مادة بروتينية فإن كثيراً من الميكروبات تحلله فيفقد بذلك قدرته على التصلب ويصبح سائلاً والأنزيم الذي يحلل الجيلاتين يسمى الجيلاتينيز Gelatinase وهو أنزيم خارجي

تجدر الإشارة إلى أن بيئة الجيلاتين المغذى لها خاصية التصلب Hydrogel على درجة أقل من ٢٥ْم ويتحول إلىHydrosol الحالة السائلة على درجة الحرارة أعلى من٢٥ ْم ويجب أن لا تحتوي البيئة على مادة كربوهيدراتية سهلة التبخر إذ أن الأنزيم المحلل للجيلاتين لا يفرز في وجودها عادة.

يعتبر اختبار تحليل الجيلاتين من الاختبارات الهامة في التعرف على الميكروبات وتعتبر الميكروبات المحللة للجيلاتين ميكروبات محللة للبروتينات Proteolytic وفيما يلي طريقة إجراء الاختبار:

الأدوات و المواد اللازمة

١- مزرعة *B. subtilis or Proteus vulguris*

٢- مزرعة *E. coli*

٣- خمسة أنابيب جيلا تين مغذي عميق.

طريقة العمل

١- لقح٢أنبوبة من بيئة الجيلاتين المغذى العميق بطريقة الوخز من مزرعة*B. subtitles or Proteus sp.*

٢- لقح بالوخز أيضاً أنبوبتين من الجيلاتين من مزرعة*E. coli*.

٣- اترك الأنبوبة الخامسة بدون تلقيح للمقارنة

٤- حضن الأنابيب على درجة٣٧ْم لمدة ٤٨ ساعة

٥- بعد فترة التحضين انقل الأنابيب إلى ثلاجة أو ضعها في كأس به ماء مثلج لمدة نصف ساعة ثم دون ما تشاهده

النتيجة

إذا تجمد الجيلاتين فإن ذلك يدل على قدرة الميكروبات على تحلله ولكن إذا أسيل الجيلاتين فإن ذلك يدل على تحلله.

ملحوظة

قد يجرى الاختبار السابق باستعمال بيئة الأجار المغذي المحتوي على ١٠٪ من بيئة الجيلاتين المغذي. فيسيح الأجار ويبرد إلى٥٠ ْم ثم يصب في الأطباق. تلقح الأطباق بطريقة التخطيط بالميكروبات المراد اختيارها لهذه الخاصية وبعد فترة التحضين تغمر الأطباق بمحلول مكون من١٥جم $HgCl_2$ و ٢٠جرام HCl مركز، ١٠٠ مل ماء.

فالميكروب المحلل للجيلاتين تظهر حوله هالة رائقة بينما باقي البيئة تكون ذات لون معتم، ولا تتكون هذه الهالة الرائقة حول الميكروبات غير المحللة للجيلاتين.

التدريب العملي

أمامك البيئات التي تم تحضيرها لإجراء الاختبار للكشف عن مدى حدوث تحلل لكل من:

١- تحلل النشا.

٢- تحلل الجيلاتين.

دون نتائج الاختبار في جدول.

م	مظاهر التغير في البيئة	تحلل النشا	تحلل الجيلاتين
١	تكون هالة حول الميكروب		
٢	لون الهالة		
٣	تجمد الجيلاتين من عدمه		

أسئلة

س١ :أكمل العبارات التالية :-

١- الإنزيمات نوعان - - - - - - - - - - ، - - - - - - - - - - - - - - - - - - .

٢- الإنزيم المسئول عن تحليل النشا هو - - - - - - - - - - - - - - - - - -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

إنزيمات التحلل المائي

اسم الوحدة: تابع إنزيمات التحلل المائي.

الجدارة: التعرف والكشف عن الإنزيمات التي تنتجها البكتريا.

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على نواتج التحلل الإنزيمي الناتج عن فعل البكتريا ووصفها.

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة ٩٨٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان.

الوسائل المساعدة

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان الكهربائي.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

تابع - الإنزيمات البكتيرية

تحليل الكازين

الكازين عبارة عن فوسفوبروتين وهو الجزء البروتيني الرئيس في اللبن، تستطيع بعض الميكروبات أن تحلل الكازين إلى مشتقات قابلة للذوبان ويعرف ذلك باسم الـ.Patronization .

والأنزيم الذي يحلل الكازين يسمى كازياز Casease وهو أنزيم خارجي ويمكن إثبات وجود هذا الأنزيم بتلقيح الميكروب بطريقة التخطيط على سطح بيئة أجار اللبن فإذا تكونت هالة رائقة حول النمو البكتيري فإن ذلك يدل على إفراز الأنزيم. تستطيع بعض الميكروبات إفراز أنزيم الكازياز والبعض الآخر لا يستطيع ذلك ويعتبر هذا الاختبار هام في التعرف على الميكروبات

الأدوات والمواد اللازمة

١- لبن فرز معقم
٢- أنابيب أجار مغذي عميق
٣- أطباق بتري معقمة
٤- مزرعة *E. coli*.
٥- مزرعة *B. subtitles*.
٦- مزرعة *Streptococcus lactis*

طريقة العمل

١- سيح ثلاث أنابيب أجار عميق ثم بردها إلى درجة٥٠ْ م.
٢- ضع١سم٣ من اللبن الفرز المعقم بواسطة ماصة معقمة في كل ثلاثة أطباق بترية ثم صب الأجار المغذي وحرك الطبق لكي ينتشر اللبن في الأجار وبانتظام ثم اترك البيئة لتجمد.
٣- لقح بالتخطيط كل طبق بأحد الميكروبات الثلاثة.
٤- اقلب الأطباق وحضن على درجة٣٧ْم لمدة٣- ٤ أيام.
٥- اختبر الأطباق لوجود هالة رائقة حول المجاميع ثم اغمر الأطباق بمحلول١٠٪ HCl فإذا ظلت الهالة الرائقة موجودة فإن ذلك يدل على أن الميكروب يحلل الكازين. أما إذا كانت الهالة الرائقة موجودة ثم اختفت بعد إضافة الحامض أو لم تكن موجودة أصلاً فإن ذلك يدل على أن الميكروب غير محلل للكازين

٦- لاحظ أيضاً رائحة الأطباق خصوصاً التي بها تحلل للكازين حيث تظهر رائحة غير مرغوبة

تحليل الدهون

لبعض الميكروبات القدرة على تحليل الدهون وينتج عن ذلك تزنخها أو فسادها. وينتج عن التحليل الجليسريدات ذات الوزن الجزئي المنخفض جليسرين وأحماض دهنية طيارة أما الجليسريدات العالية فتتحلل إلى جليسرول وأحماض دهنية.

الأدوات والمواد اللازمة

١- أطباق بتري معقمة.
٢- ماصات معقمة.
٣- أنابيب أجار مغذي عميق.
٤- محلول كبريتات النحاس.
٥- مزرعة *Pseudomonas flourescens*.
٦- مزرعة *E.coli*
٧- مزرعة *B.subtilis*.
٨- مزرعة *Pencillium*.
٩ –زيت بذرة القطن المعقم أو زبدة معقمة

طريقة العمل

١- سيح أنابيب الأجار العميق ثم برد إلى٥٠ ْم
٢- انقل بماصة معقمة مقدار١سم٣ من الزيت أو الزبد المعقم السايح إلى أنبوبة للأجار ثم رج جيداً حتى يتكون مستحلب ثم صب الأجار في طبق بتري معقم واتركه حتى يتجمد.
٣- قسم قاع الطبق إلى أربعة أقسام باستعمال قلم شمع ثم لقح كل قسم بأحد الميكروبات الموجودة أمامك
٤- حضن الطبق على درجة٣٧ ْم لمدة٣- ٤ أيام.
٥- بعد فترة التحضين أغمر الطبق بمحلول كبريتات النحاس. لاحظ ما تشاهده.

النتيجة

يشاهد لون أخضر مزرق حول وتحت المجاميع المحللة للدهون وذلك نتيجة لاتحاد الأحماض الدهنية الناتجة عن تحلل الدهن مع كبريتات النحاس

التدريب العملي

أمامك البيئات التي تم تحضيرها لإجراء الاختبار للكشف عن مدى حدوث تحلل لكل من:

١- تحلل الكازين.

٢- تحلل الدهون.

دون نتائج الاختبار في جدول.

م	مظاهر التغير في البيئة	تحلل الكازين	تحلل الدهون
١	تكون هالة حول الميكروب		
٢	لون الهالة		
٣	تكون رائحة		

أسئلة

س١ : أكمل العبارات التالية:

١- الكازين عبارة عن- - - -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

الاختبار البكتريولوجي للفواكة

اسم الوحدة: الاختبار البكتريولوجي للفواكه المجففة.

الجدارة: التعرف والكشف عن الميكروبات التي توجد في الفواكه المجففة.

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على نواتج التحلل الإنزيمي الناتج عن فعل البكتريا ووصفها.

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة ٩٨٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان.

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان الكهربائي- جهاز العد الكلي للبكتريا.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

الاختبار البكتريولوجي للفواكه المجففة

تحتوي الفاكهة المجففة في العادة على أعداد مختلفة من الفطريات والخمائر والبكتريا ولكنها غير نشطة نظراً لارتفاع نسبة السكر في هذه الفواكه ولعدم وجود الرطوبة الكافية.

الأدوات اللازمة

١- فواكه مجففة (تين– بلح– مشمش– زبيب).
٢- سكين وملقط معقم.
٣- أطباق بتري معقمة.
٤- ماصات معقمة.
٥- بيئة أجار الجلوكوز ومستخلص الخميرة.
٦- بيئة مرق اللاكتوز المحتوية على دليل بروموكريزول بريل
٧- بيئة مرق الجلوكوز ومستخلص الخميرة.
٨- بيئة أجار المولت.

طريقة العمل

أ- تقدر عدد البكتريا بطريقة الأطباق:

٢- أوزن مقدار ١٠جم من الفاكهة المجففة تحت ظروف التعقيم ثم انقلها إلى ٩٠سم^3 ماء معقم، اتركها لمدة ١٠ - ١٥ دقيقة ثم رج بشدة.
٣- اعمل تخفيفات مناسبة١/١٠، ١/١٠٠، ١/١٠٠٠، ١/١٠٠٠٠
٤- خذ١سم^3 من التخفيفات السابقة وضع كلاً منها في طبق بتري معقم ثم صب عليه بيئة أجار الجلوكوز ومستخلص الخميرة.
٥- حضن الأطباق على درجة حرارة المعمل لمدة ٥ أيام ثم عد البكتريا شاهد أنواع البكتريا الموجودة على الأطباق مع فحصها ميكروسكوبيا. بعد صبغها بصبغة جرام.

ب- اختبار وجود الخمائر Detection of yeasts

ضع قطعة من الفاكهة المجففة في أنبوبة محتوية على بيئة مرق الجلوكوز ومستخلص الخميرة المحمضة بحامض اللاكتيك إلى رقم ٤pH ثم حضن الأنبوبة على درجة حرارة المعمل لمدة٥ أيام ثم اختبر ميكروسكوبيا للخميرة أو للبكتريا الموجودة

ج- اختبار وجود الميكروبات التي تخمر اللاكتوز:

ضع قطعة من الفاكهة المجففة في أنبوبة محتوية على بيئة مرق اللاكتوز ودليل بروموكريزول بريل والتي بها أنبوبة در هام حضن على درجة٣٧ْم لمدة٢يوم ثم اختبر لوجود غاز في أنبوبة درهام وتكوين حامض بالبيئة افحص ميكروسكوبيا.

د- اختبار وجود الفطريات Detection of molds

ضع ١سم^{٣} من تخفيفات{١/١، ١٠/١٠٠، ١/١٠٠٠} كلاً في طبق بتري معقم ثم صب عليها بيئة أجار المولت رقم pH لها٣,٥ حضن على درجة حرارة الحجرة لمدة ٥ أيام قدر عدد الفطريات وكذلك لاحظ الأنواع الموجودة

التدريب العملي

أمامك عينات من الفواكة المجففة (زبيب- بلح- مشمش). والمطلوب فحص هذه العينات وإجراء كل من الاختبارات التالية:

١- تقدير العدد الكلي للبكتريا بطريقة العد بالأطباق.

٢- اختبار وجود الخمائر.

٣- اختبار وجود الميكروبات المخمرة لسكر اللاكتوز.

٤- اختبار وجود الفطريات.

٥- دون نتائج الاختبار في جدول.

م	نوع التغير في البيئة	اختبار وجود الخمائر	اختبار وجود الميكروبات المخمرة للاكتوز	اختبار وجود الفطريات
١	تكون غاز			
٢	الفحص الميكروسكوبي			
٣	الصبغ بجرام			

أسئلة

س١ : ما هي أنواع الأحياء الدقيقة التي تتوقعها أن تتواجد على الفاكهة المجففة؟(تين- مشمش).

- -

- -

- -

- -

- -

- -

- -

س٢ : لماذا يكون العفن أكثر سببا في تلف الفاكهة ؟

- -

- -

- -

- .

س٣ : نتيجة الفحص الذي قمت به- اذكر أنواع الأحياء الدقيقة التي وجدتها على الفاكهة المجففة؟ مع رسم هذه الأحياء الدقيقة ؟

- -

- -

- -

- -

- -

- -

- -

- -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

الاختبار البكتريولوجي للدقيق

الجدارة: التعرف والكشف عن الميكروبات التي توجد في الدقيق.

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على الميكروبات التي تتواجد في الدقيق ووصفها.

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة٩٨٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان الكهربائي- جهاز العد الكلي للبكتريا.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

اختبار الدقيق بكتريولوجيا

عدد الميكروبات بالدقيق

يحتوي الدقيق على أنواع عديدة من الميكروبات كالفطريات والخمائر والبكتريا والاكتينوميسس وتتوقف كميتها على عوامل عديدة منها درجة الرطوبة ونظافة البذور المطحونة من الأمراض النباتية الفطرية والبكترية وتلوث الدقيق بالأتربة.

وعادة توجد البكتريا المتجرثمة بأعداد وفيرة نسبياً وذلك في طور الجراثيم لعدم ملاءمة الدقيق لنمو الأطوار الخضرية إذا ما كانت نسبة الرطوبة به قليلة.

الأدوات والمواد اللازمة

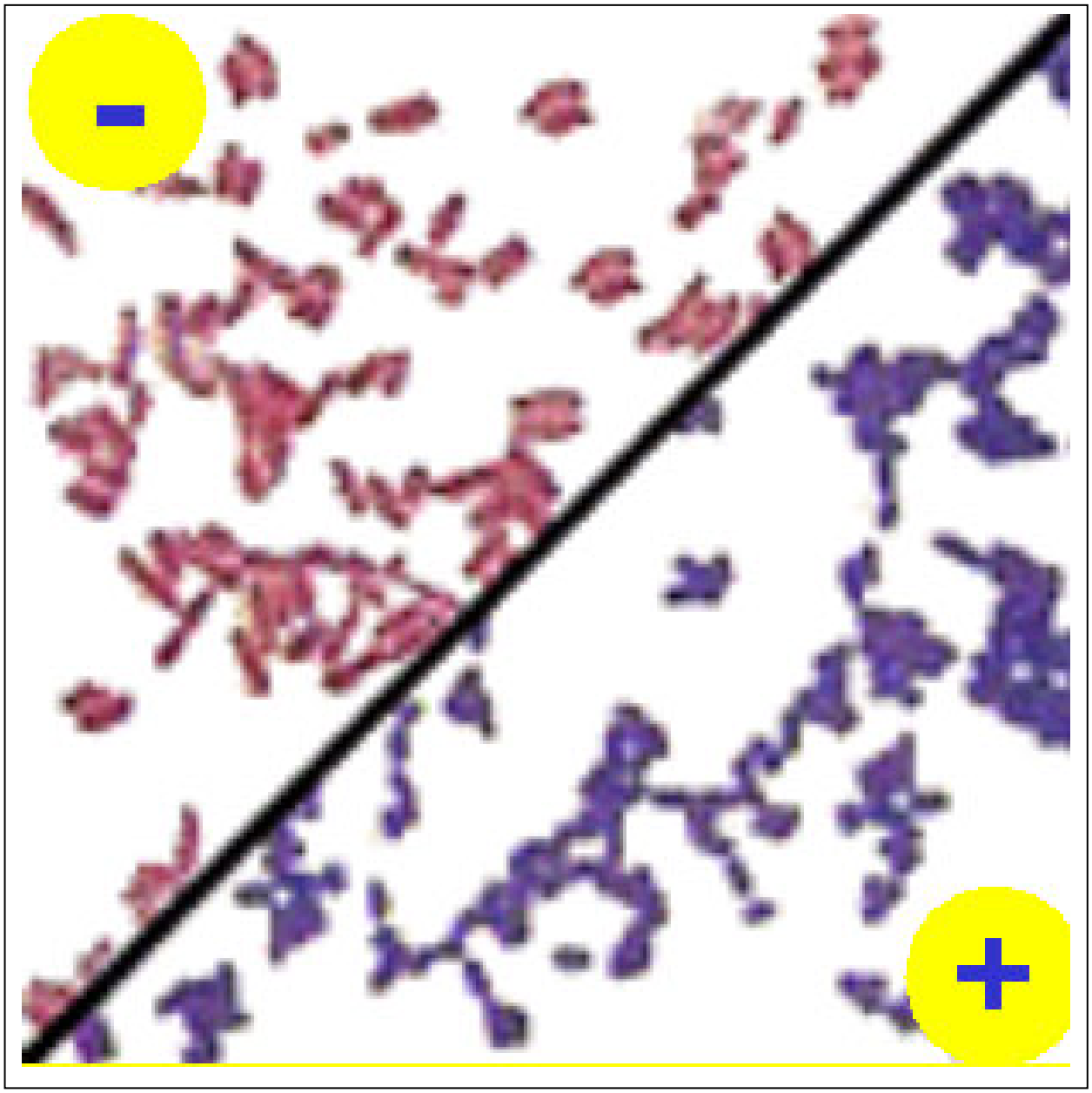
١- أطباق بتري معقمة.
٢- ماصات معقمة.
٣- أنابيب اختبار بها ٩سم٣ ماء معقمة.
٤- بيئة الأجار المغذي.

طريقة العمل

١- أوزن مقدار ١٠جم من الدقيق الجاف بدقة ثم انقلها إلى زجاجة تحتوي ٩٠سم^{3} ماء معقم.
٢- رج جيداً ثم أجر التخفيفات إلى ١/١٠٠٠٠.
٣- خذ من كل تخفيف ١سم^{3} في طبق بتري معقم ثم صب عليه بيئة الأجار المغذي بعد تسييحه وتبريده إلى درجة ٤٥°م
٤- حضن الأطباق على درجة ٣٠°م لمدة يومين
٥- عد الميكروبات النامية على الأطباق ثم قدر العدد الكلي في الجرام الواحد وزن جاف.
٦- قسم الميكروبات النامية إلى بكتريا وخميرة وفطريات ثم قسم البكتريا إلى مجاميع بكتريا متجرثمة – ملونة..الخ.

تقدير عدد الجراثيم البكتيرية

يمكن تقدير عدد البكتريا المتجرثمة وذلك بتسخين التخفيفات السابقة على درجة ٨٠°م لمدة ١٥ دقيقة ثم زرعها كما سبق وعدها بعد فترة التحضين، قدر عدد البكتريا المتجرثمة في عينة الدقيق التي أمامك ثم انسبها إلى العدد الكلي للبكتريا.



شكل(٦) الشكل المجهري البكتريا(-) سالبة لجرام،(+) موجبة لجرام

التدريب العملي

أمامك البيئة التي قمت بتحضيرها وهى بيئة الأجار المغذي. والمطلوب إجراء الاختبار مع اتباع الخطوات كما ذكرت في الدرس العملي

م	نوع العينة	العدد الكلي للميكروبات	عدد الجراثيم البكتيرية
١	دقيق		
٢	القشور الخارجية(النخالة)		

أسئلة

س١ : ما هي أنواع الأحياء الدقيقة التي تعيش على الحبوب ؟

- - - -

س٤ : لماذا ينمو العفن على قطعة الخبز الرطبة؟

س٥ : صف الأحياء الدقيقة التي حصلت عليها نتيجة الاختبار العملي الذي قمت به؟

الأحياء الدقيقة في الأغذية

الاختبار البكتريولوجي للمشروبات المعبأة

الجدارة: التعرف والكشف عن الميكروبات التي توجد في المشروبات المعبأة.

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على الميكروبات التي تتواجد في المشروبات المعبأة ووصفها.

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة ٩٨٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان- جهاز العد الكلي.للبكتريا.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

الاختبار البكتريولوجي للمشروبات المعبأة

يجب أن تكون المشروبات المعبأة نظيفة بكتريولوجياً ويطبق عادة على هذه المشروبات المواصفات البكيريولوجية الخاصة بمياه الشرب.

الأدوات اللازمة

١. مشروبات معبأة في زجاجات ومكوناتها الغذائية
٢. أطباق بتري معقمة.
٣. بيئة أجار المولت.
٤. بيئة ماكونكي السائلة.
٥. بيئة الأجار المغذي.
٦. زجاجات معدة للتعبئة.
٧. ماصات معقمة.
٨. سدادات لهذه الزجاجات

(أ) اختبار المشروبات الجاهزة للاستهلاك

١- الحصول على العينة

افتح زجاجة تحت شروط تعقيم و عقم فوهة الزجاجة بتعريضها للهب، ثم اسحب عينة باستعمال ماصة١٠سم^{٣} معقمة، (العينات المحتوية على غاز ثاني أكسيد الكربون يجب أن تفتح قبل أخذ العينة بساعة أو ساعتين وذلك للتخلص من الغاز. ويجب التأكد من أن الكمية المأخوذة من العينة للتحليل كلها سائل وليس بها غاز)

٢- العد بطريقة الأطباق

خذ ١سم^{٣} من العينة وقدر عدد البكتريا باستعمال الأجار المغذي وعدد الفطريات والخمائر باستعمال أجار المولت حضن على درجة ٣٠°م لمدة٣ يوم ثم احسب العدد في١سم^{٣}

٣- فحص العينة لميكروبات القولون

لقح١سم^{٣} من العينة في أنبوبة تحتوي على بيئة ماكونكي السائلة المزودة بأنبوبة درهام مع عمل٥ مكررات، حضن على درجة٣٧°م لمدة٣ أيام واختبر وجود الغاز.

ملحوظة

يطبق عادة على هذه المشروبات المواصفات البكتريولوجية الخاصة بمياه الشرب

(ب) فحص المكونات الغذائية المصنوع منها المشروبات

١- تحضير العينة

أ) السكر: أوزن١٠جم من السكر وضعها في زجاجة تحتوي٩٠سم^{٣} ماء معقم، خذ٥سم٣، ١سم^{٣} في طبق بتري معقم وصب عليه البيئة(سيأتي ذكرها في٢)

ب) الشراب خذ١٠سم٣ من الشراب واضفه إلى٩٠سم^{٣} ماء معقم قدر من هذا التخفيف عدد الميكروبات في ١سم^{٣} منه (مثل السكر).

ج) المادة المكسبة للطعم واللون قدر عدد الميكروبات في١سم^{٣} وفي تخفيف١/١٠ من المادة المطلوب فحصها

٢- العد بطريقة الأطباق

تستعمل بيئة الأجار المغذي لتقدير العدد الكلي وبيئة أجار المولت لتقدير عدد الفطريات والخمائر، قدر الميكروبات في جرام واحد من السكر أو الشراب أو١سم^{٣} من المادة المكسبة للطعم أو اللون.

ج- الاختبارات البكتريولوجية للزجاجات المعدة للتعبئة

١- أضف١٠سم^{٣} من بيئة أجار المولت إلى إحدى الزجاجات ثم لف الزجاجة حول نفسها حتى تلامس البيئة جميع سطحها ثم اتركها على أحد جوانبها وحضنها

٢- انقل١٠سم^{٣} من ماء معقم+٢ جم من الكوارتز المعقم في الزجاجة، رج جيداً بحيث يلامس الماء جميع أسطح الزجاجة

٣- قدر عدد الميكروبات فيه بطريقة الأطباق مستعملاً بيئة أجار المولت

يمكن تقدير عدد ميكروبات القولون باستعمال بيئة ماكونكي السائلة المحتوية على أنابيب درهام

اختبار غطاء الزجاجات بكتريولوجياً

خذ غطاء تحت شروط تعقيم ثم عرض السطح الخارجي له للهب ثم ضعه في طبق بتري معقم بحيث السطح الداخلي يكون الخارج، صب أجار المولت، قدر عدد البكتريا والخمائر والفطريات بكل غطاء.

التدريب العملي

أمامك البيئات التي قمت بتحضيرها والمطلوب إجراء الاختبار مع اتباع الخطوات التي ذكرت لك.

م	نوع المشروب	اختبار المشروبات الجاهزة	اختبار المكونات الداخلة في التصنيع	اختبار العبوات
١	شراب طبيعي			
٢	عصائر			
٣	مياه غازية			

أسئلة

س١ :أكمل العبارات التالية :

١- العينات المحتوية على غاز Co_2 يجب أن تفتح قبل أخذ العينة - - - - - - - - وذلك من أجل- - - - - - - - -

- - - -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

الفحص البكتريولوجي للأغذية المعلبة غير الفاسدة

الجدارة: التعرف والكشف عن الميكروبات التي توجد في الأغذية المعلبة.

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على الميكروبات التي تتواجد في الأغذية المعلبة على أن تكون غير فاسدة ووصفها.

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة٩٥٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان- جهاز العد الكلي.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

الفحص البكتريولوجي للأغذية المعلبة غير الفاسدة

تختبر الأغذية المعلبة بكتريولوجيا من حيث تمام جودة التعقيم والقدرة على الحفظ ويجري معرفة جودة التعقيم بأخذ عينة منها مباشرة وفحصها بكتريولوجيا أما قدرتها على الحفظ فيجري هذا الاختبار بتحضين العلب وهي مقفلة فترة من الزمن.

الأدوات اللازمة

١- أغذية معلبة(خضر وفاكهة).

٢- بيئة أجار الجلوكوز والتربتون المحتوية على دليل بروموكريزول بريل.

٣- بيئة أجار البيتون والحديد.

٤- بيئة مرق الكبد.

٥- بيئة أجار المولت.

٦- أطباق بترية معقمة.

طريقة العمل

١- اختبار الخضروات المعلبة من حيث تمام جودة التعقيم

تحضير العينة

أ- تفتح العلبة تحت شروط التعقيم، وذلك بتعقيم مكان الفتحة باللهب أو بأي وسيلة أخرى وتستخدم فتاحة بعد تعقيمها في اللهب وتفتح بها العلبة في هذا المكان المعقم.

ب- انقل١٥جم أو١٥سم^{٣} من الغذاء، تستعمل ماصة معقمة ذات نهاية متسعة لنقل السوائل، كما يستعمل ثاقب فلين أو ملعقة spatula معقمة لنقل الأغذية الصلبة أو النصف صلبة يستعمل كذلك قضيب زجاجي معقم للمعاونة في إدخال العينة إلى أنبوبة اختبار معقمة.

إجراء الاختبار:

أ) تخلط المادة الغذائية مع مثل حجمها من الماء المعقم جيداً قبل التلقيح وترج جيداً ويوزع١٥سم^{٣}أو١٥ جرام منها على٣ أنابيب من البيئات استعمل واحدة أو أكثر من البيئات الآتية

١- بيئةأجارأومرق الجلوكوز والتربتون المحتوي على دليل بروموكريزول بريل (لاختبار وجود الميكروبات المحدثة للفساد الحمضي المستتر).

٢- بيئة مرق الكبد (لاختبار وجود الميكروبات المحللة للبروتينات) والمحدثة لحالات الانتفاخ بالعلب

٣- بيئة أجار البيتون والحديد(لاختبار الميكروبات المسببة للفساد الكبريتي).

ب) حمض مجموعة من٣ أنابيب على درجة٣٧ْم وأخرى على٥٥ْم لمدة٤٨- ٧٢ ساعة ثم اختبر للنمو ثم افحص ميكروسكوبيا بعمل غشاء وصبغة بطريقة جرام.

٢- اختبار الفواكه المعلبة وغيرها من الأغذية الحامضية لكونها معقمة

يجرى هذا الاختبار بغرض معرفة مدى تعقيم أو وجود البكتريا التي قد تسبب فساد الغذاء الحامضي.

تحضير الاختبار السابق:

إجراء الاختبار

أ- وزع ١٥سم٣، أو١٥حجم من العينة على٥أطباق بتري معقم ثم صب بيئة أجار ا لمولت، حضن على درجة٣٠ْم لمدة٧٢ ساعة، ثم اجرِ العد لمجاميع الميكروبات المحبة للحموضة النامية ودون النتائج التي تحصل عليها.

ب- وزع١٥سم٣، أو١٥ جم في ٦ أنابيب من كل من البيئات التالية:-

١- مرق الجلوكوز والتربتون المحتوي على دليل بروموكريزول بريل.

٢- مرق الكبد.

ملحوظة:

من الأجار المعقم فوق سطح البيئة السائلة، ثم حضن ثلاثة أنابيب من كل بيئة على درجة٣٧ْم لمدة٤٨- ٧٢ ساعة و٣أنابيب أخرى على درجة٥٥ْم لمدة٤٨ ساعة ابحث عن الميكروبات اللاهوائية المحللة للبروتينات.

ملحوظة:

إذا كانت المادة تحتوي على جزء سائل وجزء آخر صلب يؤخذ عينة من السائل كما سبق ومن الصلب باستعمال ملقط معقم ثم يجرى ما سبق في عمل شرحة في(١، ٢).

اختبار قوة الحفظ

١- الاختبار الميكروسكوبي:لعلب على درجة٣٧ْم لمدة٣٠ يوم للميكروبات الميزوفيلية وأخرى على ٥٥ْم لمدة١٠أيام للميكروبات الثروموفيلية ثم اختبر كالآتي:-

أ- الاختبار الظاهري: لعلامات الفساد على العلب (الانتفاخ) قدر الرقم الأيدروجيني بعد فتحها.

ب- الاختبار الميكروسكوبي بتحضير غشاء من العلبة وفحصه ميكروسكوبيا بعد صبغه بطريقة جرام مثلاً

٢- الأطعمة الحامضية الأكثر:حضن العلب على درجة٣٠ْم أو على درجة حرارة المعمل لمدة١٤ يوم إلا إذا كانت العلب قد مكثت مثل هذه المدة بالمعمل بعد تصنيعها، اختبر ظاهرياً كما سبق في (١)

٣- للحصول على معلومات أكثر: فيما يختص بالميكروبات الموجودة يمكن تتبع (٢) وخطواتها

التدريب العملي

أمامك البيئات التي حضرتها ، والمطلوب إجراء الاختبار مع اتباع الخطوات التي ذكرت لك.

م	العد الكلي للميكروبات	الخضروات المعلبة	الفواكة المعلبة	الأغذية الحامضية
١	البكتريا			
٢	الفطريات			
٣	الخمائر			

أسئلة

س١ : ضع علامة(✓)أو(X) أمام العبارات التالية :-

١- للكشف عن مدى جودة عملية التعقيم للأغذية المعلبة تؤخذ عينات مخزنة. ( ).

٢- للتعرف على كفاءة عملية الحفظ تؤخذ عينات طازجة. ( ).

٣- تستخدم بيئة أجارالجلوكوز والتربتون للتعرف على التحلل للبروتينات. ( ).

٤- الأطعمة الحامضية المعلبة تحضن لمدة٢٤ ساعة. ( ).

س٢. كيف يمكن التأكد من قوة حفظ كل من

١) الخضروات المعلبة - - -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

دراسة مقاومة الجراثيم للحرارة (الخميرة- البكتريا- الفطر)

اسم الوحدة: دراسة مقاومة الجراثيم للحرارة (الخميرة- البكتريا- الفطر).

الجدارة: التعرف والكشف عن جراثيم الميكروبات التي تقاوم الحرارة.

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على جراثيم الميكروبات التي تتواجد في الأغذية وتقاوم الحرارة.

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة ٩٥٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان- جهاز العد الكلي.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

دراسة مقاومة جراثيم الخميرة والفطريات والبكتريا للحرارة

من المعروف أن جراثيم البكتريا أشد مقاومة للحرارة من جراثيم الخمائر والفطريات ويرجع ذلك لأن تركيبها عبارة عن بروتين متماسك به نسبة بسيطة من الماء

الأدوات والمواد اللازمة

١- جراثيم من الفطريات.

٢- جراثيم خميرة.

٣- جراثيم بكتريا. *B. subtilis*

٤- بيئة بويون الجلوكوز ومستخلص الخميرة

٥- بيئة مرق مغذي.

طريقة العمل

احتياطات خاصة يجب اتخاذها :-

١- يجب عدم لمس جوانب الأنبوبة بالإبرة أثناء التلقيح فإذا لمست يجب تعقيمها بتعريضها للهب قبل ابتداء تجربة المقاومة للحرارة

٢- امزج جيداً الميكروب الملقح بالبيئة

٣- إذا سخنت الأنابيب في حمام مائي يجب أن يكون الماء في مستوى أعلى من مستوى سطح البيئة

٤- نفذ التعليمات بدقة للمدة ودرجة الحرارة المستعملة.

٥- بعد فترة التعريض للحرارة برد بسرعة في ماء مثلج

١- مقاومة جراثيم الخميرة للحرارة.

أ- لقح٧أنابيب من بيئة مرق الجلوكوز ومستخلص الخميرة بمقدار١و٠سم^{٣} من معلق خميرة متجرثمة.

ب- سخن٦أنابيب من هذه الأنابيب في حمام مائي على درجة٦٠^{o}م وارفع الأنبوبة الأولى بعد دقيقة والثانية بعد ٦ دقائق وهكذا بعد٨، ١٠، ١٢، ١٥ دقيقة اترك الأنبوبة السابقة بدون تسخين للمقارنة

ج- برد الأنابيب بعد رفعها مباشرة وبسرعة وحضن كل الأنابيب (السابعة أيضاً وهي المستعملة للمقارنة) على درجة حرارة الحجرة لمدة٢- ٥ يوم.

د- اختبر مقدار النمو بالتعكير، الرواسب، الغاز المتصاعد، قارن النمو مع الأنبوبة غير المعاملة ثم أوضح ذلك باستعمال علامة(+).

٢- مقاومة جراثيم الفطر للحرارة

أ) الحرارة الرطبة:

١- لقح أنابيب من بيئة مرق الجلوكوز ومستخلص الخميرة بمقدار ٠,١سم^{٣} من معلق جراثيم الفطر *Penicillium* or *Aspergillus* .

٢- أجر ما سبق ذكره في الخميرة

ب)الحرارة الجافة:

١- سخن٤أنابيب تحتوي على جراثيم الفطر الجافة في حمام مائي على درجة٦٠°م ثم ارفع أنبوبة بعد١٠ والثانية بعد٢٠ وهكذا بعد٣٠ و٦٠ دقيقة.

٢- أضف تحت شروط التعقيم إلى الأنابيب السابقة بعد تعقيم فوهة كل أنبوبة بيئة مرق الجلوكوز ومستخلص الخميرة باستعمال ماصة معقمة إلى نصف الأنبوبة، وباستعمال أبرة تلقيح معقمة حرك البيئة وما بها من جراثيم بغرض توزيعها

٣- حضن على درجة حرارة الغرفة لمدة٢– ٥ يوم ثم اختبر لنمو الفطر.

٣- مقاومة جراثيم البكتريا للحرارة

١- اختبر مقاومة جراثيم *B. subtilis* على درجة٦٠°م ذلك بتلقيح٠,١سم^{٣} من معلق الجراثيم في بيئة مرق مغذي عادي، هذا المعلق سبق تسخين إجزاء منه على درجة٦٠°م لمدة٢ يوم، ٣ يوم، ٤ يوم، ٧ يوم

٢- حضن أنابيب المرق الملقح بمعلق *B. subtilis* السابق الذكر على درجة حرارة المعمل لمدة٢–٥ يوم ثم اختبر النمو الغشائي على سطح البيئة للميكروب.

التدريب العملي

أمامك البيئات التي قمت بتحضيرها ، والمطلوب إجراء الاختبار.

م	البيئات	مقدار التعكير	الرواسب	الغاز المتصاعد
١	بيئة جراثيم البكتريا			
٢	بيئة جراثيم الخمائر			
٣	بيئة جراثيم الفطريات			
٤	بيئة نقية بدون معاملة			

أسئلة

س١ : أكمل العبارات التالية :-

١- جراثيم - - - - - أشد مقاومة للحرارة من جراثيم- - - - - - - - ويرجع ذلك إلى- - - - - - - -

الأحياء الدقيقة في الأغذية

عد بكتريا الحليب بطريقة العد المباشر

اسم الوحدة: عد بكتريا الحليب بطريقة العد المباشر.

الجدارة: التعرف والكشف عن الميكروبات التي توجد في الحليب.

الأهداف:

١- أن يقوم المتدرب بالتعرف على الميكروبات التي تتواجد في الحليب..

٢- أن يتعلم المتدرب كيفية إعداد البيئات وتعقيمها.

٣- أن يقوم المتدرب باستخدام الميكروسكوب بالطريقة الصحيحة.

مستوى الأداء المطلوب: أن يصل المتدرب إلى إتقان الجدارة بنسبة ٩٨٪.

الوقت المتوقع للتدريب على الجدارة: ساعتان.

الوسائل المساعدة:

١- وجود مختبر للأحياء الدقيقة مجهز بجميع الأدوات اللازمة لإجراء الاختبارات المختلفة.

٢- وجود بعض الأجهزة المساعدة مثل: المعقم- الحضان- جهاز العد الكلي للبكتريا.

٣- استخدام اللوحات التوضيحية المبينة لأشكال الكائنات الحية الدقيقة.

متطلبات الجدارة:

١- أن يكون المتدرب قادرا على تطبيق خطوات التجربة بدقة والتعرف على أنواع الأحياء الدقيقة التي قام بتنميتها.

٢- تحتاج الجدارة التدريب مسبقا على كيفية استخدام الأجهزة التي تستخدم في الاختبار.

عد بكتريا الحليب بطريقة العد الميكروسكوبي المباشر

Breeds method

يمكن إحصاء عدد البكتريا في الحليب بطريقة العد الميكروسكوبي المباشر وفي هذه الطريقة يقدر مساحة الحقل الميكروسكوبي ثم يؤخذ حجم معلوم من الحليب (١/١٠٠سم^{٣}) وينشر على مساحة معلومة على الشريحة(١سم٢) ثم يترك الحليب ليجف ويزال منه الدهن بالزيلول ثم يثبت الغشاء ويصبغ بالميثلين الأزرق يقدر عدد البكتريا في حوالي٢٥حقل ميكروسكوبي ثم يؤخذ المتوسط الحسابي ويضرب في المعامل الميكروسكوبي(microscopic factor) ويلاحظ عد السلاسل والبكتريا المتجمعة clumps كميكروب واحد وبذلك تعطى هذه الطريقة نتيجة مشابهة للعد على الأطباق

الأدوات والمواد اللازمة :

١- عينة حليب.

٢- شريحة ميكروميترية

٣- ماصة باستير

٤- شريحة بريد Breed أو شريحة مرسوم عليها ١سم^{٢}.

طريقة العمل

١- قدر مساحة الحقل الميكروسكوبي باستعمال العدسة الزيتية بالطريقة الآتية:

أ) اضبط الميكروسكوب على شريحة زجاجية بها تدريج ميكروميتري Micrometric scale(شريحة ميكروميترية) باستعمال العدسة الزيتية ثم ضع نقطة من زيت سيدر على الشريحة الميكرومترية ثم اضبط الميكروسكوب وحرك الشريحة الميكروميترية إلى أن يظهر طرف التدريج Scale في أول الحقل الميكروسكوبي ثم حرك ماسورة الميكروسكوب إلى أعلى إلى أن يصير الحقل الميكروسكوبي مساويا إلى ٠,١٦مم(١٦٠ ميكرون) ويلاحظ أنه عند رفع الماسورة يتسع الحقل الميكروسكوبي والعكس صحيح .

ب) عد التداريج الموجودة على طول قطر الحقل وهذا العدد يجب أن يكون من١٤إلى ١٦ وهذا معناه أن قطر الحقل الميكروسكوبي٠,١٤– ٠,١٦ مم (١٤٠–١٦٠ ميكرون).

ج) احسب مساحة الحقل الميكروسكوبي في صورة مربعة باستعمال المعادلة الآتية :

المساحة = ط نق ٢ $\quad r^2 \prod$

حيث إن ط=٣,١٤ $\prod$، نق= نصف القطر r

فإذا كان قطر المجال أو الحقل الميكروسكوبي يساوي١٦٠ ميكرون

فتكون المساحة=٣,١٤ X ٨٠ X ٨٠= ٢٠٠٩٦ ميكرون مربع

عدد المجالات أو الحقول الموجودة في١سم^{٢}أي المعامل الميكروسكوبي= ١٠٠٠X ١٠٠٠X ١٠ X ١٠ / ٢٠٠٩٦

= ٤٩٧٦أو٥٠٠٠ تقريباً

ولإيجاد عدد الميكروبات في١سم^{٣} من عينة الحليب يضرب المتوسط الحسابي لعدد الميكروبات في الحقل الميكروسكوبي X المعامل الميكروسكوبي ١٠٠X حيث إن كمية الحليب الموضوعة هي١/١٠٠ سم^{٣}

٢- اعمل غشاء من عينة الحليب المعطاة لك وذلك باستعمال شريحة برا يد المرسوم عليها١سم^{٣}، وذلك بأخذ١/١٠٠ سم^{٣} من الحليب باستعمال ماصة باستير المعقمة مع ملاحظة تجفيف طرف الماصة قبل وضعه على الشريحة ثم نشره بواسطة أبرة معقمة على مساحة الـ١سم^{٢} ثم جفف الشريحة على المصباح الكهربائي الذي أمامك مع مراعاة عدم إحداث تشققات بالغشاء

ملحوظة:

يمكن استعمال غمس إبرة قياسية Galibrated loop حجمها يساوي١/١٠٠سم^{٣} على ألا تعقم هذه الإبرة باللهب بل تعقم بغمسها في ماء يغلي ثم تجفيفها بفوطة نظيفة معقمة.

٣- ضع الشريحة في أناء به زيلول لمدة دقيقة واحدة لإزالة الدهن، جفف في الهواء ثم اغمسها في كحول ٩٥٪ لمدة دقيقة لتثبيت الغشاء اترك الشريحة في الهواء لتجف ثم اصبغها بأزرق الميثيلين لمدة نصف دقيقة ثم اغسلها بالماء وبعد تجفيفها افحصها بالعدسة الزيتية

٤- عد الميكروبات في٢٥ مجالا واحسب العدد الكلي بالطريقة السابقة

الخطوات	الحساب
١- قطر الحقل الميكروسكوبي باستعمال العدسة الزيتية (ميكرون) ٢- مساحة الحقل الميكروسكوبي للعدسة الزيتية (ميكرون مربع) . ٣- عدد الحقول الميكروسكوبية في ١سم^{٢} . ٤- المتوسط الحسابي لعدد الميكروبات في الحقل الميكروسكوبي الواحد وذلك بعد عد البكتريا . ٥- عدد البكتريا في ١سم^{٣} .	

قد تستعمل صبغة نيومان New-mans stain مباشرة بغمر الغشاء فيها لمدة١٥ ثانية حيث إن تركيبها يسمح بإزالة الدهن ويثبت الغشاء وصبغ البكتريا.امل الشريحة للتخلص من الصبغة وهذا يستغرق حوالي ٣٠ ثانية ثم تغسل بالماء ثم تجفف على المصباح الكهربائي وتفحص بالعدسة الزيتية .

وفيما يلي تركيب الصبغة :

١جرام أزرق الميثيلين

٥٤ سم^{٣}كحول الايثايل

٤٠ سم^{٣} رابع كلورور الإيثان

٦ سم^{٣} حامض خليك ثلجي.

يضاف الكحول إلى رابع كلورور الإيثان ويسخن على حمام مائي على٧٠ْم(بحيث لا يزيد عن هذه الدرجة)ثم يضاف المخلوط إلى الميثلين الأزرق ويرج إلى أن تذوب الصبغة ثم يبرد ويضاف حامض الخليك ببطء ثم يرشح.

ملحوظة:

أهم عيوب هذه الطريقة: هو ظهور الميكروبات الحية والميتة وبذلك تعطى أعداد كبيرة كما يلاحظ أن سمك الغشاء قد أهمل في الحسابات السابقة.

من أهم مزايا هذه الطريقة: السرعة في إجرائها كما أنها تعطي فكرة عن أنواع البكتريا الموجودة في الحليب وعن وجود التهاب الضرع من عدمه حيث تظهر كرات الدم البيضاء.

أسئلة

س١ :أكمل العبارات التالية:

١- الشريحة المستخدمة في العد الميكروبي تسمى - - -

المحتويات

المقدمة
الوحدة الأولى: الاحتياطات الخاصة بالمختبر والتعرف على الأجهزة ١
الوحدة الثانية: مصادر التلوث ٦
الوحدة الثالثة:مواصفات المستعمرات البكتيرية ١٦
الوحدة الرابعة:الفطريات في الأغذية ٢٠
الوحدة الخامسة:الخمائر في الأغذية ٢٦
الوحدة السادسة: بكتريولوجيا المياه ٣٢
الوحدة السابعة:الإنزيمات البكتيرية ٤٧
الوحدة الثامنة: تابع الإنزيمات البكتيرية ٥٢
الوحدة التاسعة: الاختبارات التي تجرى على الفواكة المجففة ٥٦
الوحدة العاشرة:الاختبارات التي تجرى على الدقيق ٦١
الوحدة الحادي عشر:الاختبارات التي تجرى على المشروبات المعبأة ٦٦
الوحدة الثانية عشر:الاختبارات التي تجرى على الأغذية المعلبة غير الفاسدة ٧١
الوحدة الثالثة عشر:دراسة مقاومة جراثيم (البكتريا- الفطريات- الخمائر) للحرارة ٧٧
الوحدة الرابعة عشر:عد بكتريا الحليب بطريقة العد الميكروسكوبي المباشر ٨١
الملاحق ٨٦